

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XLIII. Band.

Originale.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Professor Dr. R. Pfeiffer
in Königsberg

und

Staatsrat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

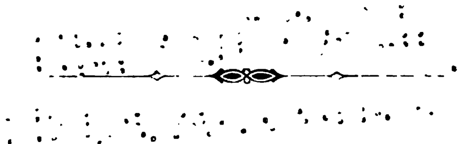
Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XLIII. Band.

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 11 Tafeln und 58 Abbildungen im Texte.



Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1907.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLIII. Heft 1.

Ueber den Einfluss von Schimmelpilzen auf die Lichtintensität in Leuchtbakterienkulturen,

nebst Mitteilung einer Methode zur vergleichenden photometrischen Messung der Lichtintensität von Leuchtbakterienkulturen.

[Aus dem kgl. hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer.]

Von

Privatdozent Dr. **E. Friedberger** und Dr. **H. Doepner**,
I. Assistent — ehemal. Volontärassist. am Institut.

Mit 3 Figuren.

Die Veranlassung zu diesen Untersuchungen gab uns eine zufällige Beobachtung. Gelegentlich von Untersuchungen über Leuchtbakterien, die von anderen Gesichtspunkten aus angestellt wurden, zeigte es sich wiederholt, daß ältere Kulturen[1]) in Petri-Schalen, die ihr Leuchtvermögen bereits völlig verloren hatten, nach einiger Zeit wieder, und zwar außergewöhnlich intensiv, aufleuchteten[2]). Es ergab sich in solchen Fällen regelmäßig, daß auf oder in der Nachbarschaft der Leuchtbakterienkolonieen Schimmelpilze zur Entwickelung gekommen waren. Wie wir nach Abschluß dieser Untersuchungen fanden, hat bereits Molisch[3]) den eigentümlichen Einfluß von Schimmelpilzen auf Leuchtbakterien beobachtet. Es lag nahe, mit dem symbiotischen Wachstum dieser Mikroorganismen die Wiederkehr des Leuchtvermögens in Zusammenhang zu bringen. Wir beschlossen deshalb, den Einfluß der Schimmelpilze auf die Leuchtbakterien näher zu untersuchen. Wir benutzten hierbei je einen Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger, Mucor stolonifer und Penicillium glaucum unserer Sammlung, ferner einen aus dem Körper einer Möve gezüchteten Stamm von Aspergillus fumigatus, der für Möven und Tauben, nicht aber für Kaninchen hochpathogen war, und einen aus der Luft gezüchteten Aspergillus niger-Stamm. Allen diesen Schimmelkulturen kam die Fähigkeit zu, die Intensität der Lichtbildung unserer Leuchtbakterienkulturen zu steigern.

Die Erhöhung des Leuchtvermögens im Zusammenhang mit dem Schimmelpilzwachstum konnte eine doppelte Ursache haben. Es war denkbar, daß die Leibessubstanz der Schimmelpilze als solche für die Leuchtbakterien ein günstiges Nährsubstrat abgibt und sie zu besonders energischer Lichtproduktion anregt; auf der anderen Seite mußte man daran denken, daß gewisse Stoffwechselprodukte oder sonstige durch

1) Es handelte sich in den meisten der folgenden Versuche um einen Leuchtbakterienstamm, der uns von Herrn Prof. Ficker, Berlin, freundlichst überlassen worden war; es war ein plumpes, kurzes, unbewegliches Stäbchen, das Gelatine nicht verflüssigte und Traubenzucker nicht vergärte.

2) Als Nährboden zur Züchtung unserer Leuchtbakterienkulturen benutzten wir folgenden Nährboden von Molisch (Botan. Zeitung. 1904):

1000 Aqua	10 Glycerin	10-proz. Gelatine oder 2-proz. Agar
125	30 NaCl	Neutralisieren
10 Pepton.		

3) Molisch, Leuchtende Pflanzen, p. 100. Jena (Fischer) 1904.

vitale Tätigkeit der Schimmelpilze bedingte Umsetzungsprodukte des Nährbodens diese erhöhte Energie der Leuchtbakterien zur Folge hätten. Bestand die erste Annahme zu Recht, so mußten vorsichtig abgetötete Schimmelkulturen bereits die besprochene Wirkung ausüben. In dieser Richtung angestellte Versuche bestätigten aber diese Ansicht keineswegs. Im Gegenteil; es ergab sich, daß die abgetöteten Schimmelpilzrasen das Leuchtvermögen deutlich herabsetzten. Wir verfuhren bei diesen Versuchen so, daß wir den gesamten Schimmelrasen vorsichtig vom Nährboden abnahmen, in strömendem Dampf abtöteten und in Agar oder Gelatine aufs sorgfältigste verteilten. Dieser Schimmelagar wurde in Schrägröhrchen oder Platten zum Erstarren gebracht; dann wurden die Nährböden mit Leuchtbakterien besät. Zur Kontrolle wurden Platten resp. Röhrchen desselben Agars, jedoch ohne Schimmelleiber, gegossen und in gleicher Weise mit derselben Leuchtbakterienaufschwemmung beschickt. Obwohl bei allen Versuchen mit einer Ausnahme sich kein Unterschied in der Wachstumsintensität zeigte, leuchteten doch die Schimmelagar- resp. Gelatinekulturen weniger als die Kontrollen.

Es blieb somit nur die Annahme übrig, daß Lebensprozesse der Schimmelpilze die Erhöhung des Leuchtvermögens unserer Kultur bewirkten. Dafür sprach auch schon die Tatsache, daß nicht nur dann, wenn sich Schimmel- und Leuchtbakterienkulturen unmittelbar berührten, die Bakterien heller aufleuchteten, sondern daß auch von dem Schimmelrasen mehr oder weniger entfernte Leuchtkolonieen höhere Lichtintensität aufwiesen. Es handelt sich also offenbar um Stoffe, die von den Schimmelpilzen sezerniert oder durch ihre Lebenstätigkeit im Nährboden gebildet wurden und in die Umgebung diffundierten. Um diese Stoffe zu isolieren, gingen wir so vor, daß wir Bouillonkulturen desjenigen Schimmelstammes, der die Leuchtkraft am deutlichsten erhöhte, anlegten, und nach 14-tägigem bis 3-wöchigem Wachstum filtrierten.

Es wurden darauf wechselnde Mengen des sterilen Filtrates mit je 5 ccm Leuchtbouillon, Leuchtagar oder Leuchtgelatine, die wir schräg erstarren ließen, versetzt. Im Kontrollröhrchen erfolgte der Zusatz gleicher Mengen von Bouillon, die ohne Schimmelaussaat geblieben war. Alle Röhrchen wurden zur gleichen Zeit mit gleichen Mengen unserer Kultur geimpft und nach einer bestimmten Zeit verglichen. Es ergab sich, daß Mengen des Schimmelfiltrates von 0,05—1,0 die Leuchtintensität stets deutlich steigerten, ohne daß ein vermehrtes Wachstum, welches hierfür hätte verantwortlich gemacht werden können, zu beobachten war. Bei dem Filtrat älterer Schimmelkulturen stellte sich heraus, daß die Lichtintensität nicht mit der Menge des Filtrates proportional ging, sondern ihr Optimum bei einem Zusatz von 0,3 des Filtrates bereits erreichte. Aber auch in den übrigen Röhrchen mit mehr oder weniger Schimmelfiltrat war hier die Differenz gegenüber den Kontrollröhrchen deutlich erkennbar. Durch Kochen des Filtrates nahm seine Wirksamkeit deutlich ab. Die eigentümliche Wirkung der Schimmelfiltrate zeigte sich nicht nur gegenüber dem Berliner Stamm, sondern gegenüber allen von uns untersuchten Kulturen. Es standen uns noch ein Stamm von B. phosphorescens (Cohn-Molisch) zur Verfügung, den wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Molisch (Prag) verdanken, und verschiedene Stämme von Leuchtvibrionen, die uns von Herrn Prof. Lode (Innsbruck) in liebenswürdiger Weise überlassen waren (Vibrio Rumpel T.B.C., Vibrio Rumpel 93, Vibrio Rumpel 94, Vibrio Orgel). Von diesen leuchteten die 3 letzteren auf unserem Nährboden

ohne Schimmelzusatz überhaupt nicht. Die an und für sich schon hell leuchtende Kultur Molischs wurde aber in ihrer Leuchtintensität so gesteigert, daß man mit der leuchtenden Fläche eines Agarröhrchens normale Druckschrift im Dunkelzimmer noch zu entziffern vermochte.

Der einzige Unterschied, den wir zwischen dem Filtrat der Schimmelbouillonkulturen und gewöhnlicher Bouillon feststellen konnten, war eine Aenderung der Reaktion, derart, daß durch das Wachstum des Schimmels die Reaktion der Bouillon, die vorher gegenüber dem Phenolphthalein sich leicht sauer erwies (es wurden zur Neutralisation von 10 ccm 0,4 ccm $^1/_{10}$-Normalnatronlauge verbraucht) eine deutlich alkalische geworden war (es wurden zur Neutralisation in den einzelnen Versuchsreihen 0,2—0,4 ccm $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure verbraucht).

Es lag nahe, in dieser Reaktionsänderung die Ursache der die Leuchtkraft erhöhenden Einwirkung der Schimmelpilze zu suchen. Um diese Frage zu entscheiden, verfuhren wir in verschiedenen Reihen von Versuchen so, daß wir die Kontrollbouillon auf denselben Reaktionsgrad brachten, wie ihn das Schimmelfiltrat aufwies, und in der einen Versuchsreihe Agar resp. Bouillon mit der filtrierten Schimmelbouillon, in der anderen mit der Kontrollbouillon von gleichem Reaktionsgrad versetzten, in einer weiteren Reihe wieder die Kontrollbouillon ohne vorherige Korrektur der Reaktion zusetzten. Es ergab sich bei Aussaat gleicher Mengen Leuchtbakterien auf die so behandelten Nährböden, daß in jedem Fall die mit filtrierter Schimmelbouillon versetzten Kulturen das intensivste Leuchtvermögen aufwiesen. Die mit Kontrollbouillon gleicher Reaktion versetzten Röhrchen zeigten ein bedeutend geringeres, aber doch durchgehend stärkeres Leuchten als die andere Kontrollserie.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also zur Evidenz, daß zum geringen Teil zwar die begünstigende Wirkung der Schimmelkulturen auf die Reaktionsänderung des Nährbodens zurückzuführen ist, daß aber daneben noch andere vitale Leistungen der Schimmelpilze eine Rolle spielen.

Die vergleichende Bestimmung des Leuchtvermögens geschah in der Regel im Dunkelzimmer, wobei Bouillonkulturen vor der Betrachtung zunächst gleichmäßig geschüttelt wurden; es konnten so mit den Augen auch kleine Differenzen im Leuchtvermögen deutlich erkannt werden. Immerhin war es uns daran gelegen, mittels einer objektiven und exakten Methode die verschiedene Intensität des Leuchtens vergleichsweise zu messen und zahlenmäßig zum Ausdruck zu bringen. Lode[1]) war wohl bisher der einzige, der eine Methode zur Messung der Lichtstärke von Leuchtbakterienkulturen angegeben hat. Er bestimmte die von einer begrenzten Kulturfläche ausgehende Lichtmenge mittels des Bunsenschen Fettfleckphotometers unter Benutzung einer kleinen Glühlampe als Vergleichsflamme, deren Leuchtkraft ihrerseits mit einer Normalkerze ausgewertet wurde. Der Autor selbst hebt hervor, „daß die Messungen in Anbetracht der Schwierigkeit der Technik wenig Anspruch auf absolute Genauigkeit stellen können“. Schon ehe uns diese Methode bekannt war, waren wir bestrebt gewesen, die mit den Augen wahrnehmbaren Unterschiede zwischen zwei Leuchtkulturen auch zahlenmäßig festzulegen. Es war uns von vornherein klar, daß bei den geringen Lichtmengen, die überhaupt zur Messung in Betracht kommen, eine Methode, bei der jede direkte subjektive Ablesung wegfällt, den

1) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 524.

Vorzug verdient. Diese Bedingungen schien uns in erster Linie die photographische Methode zu erfüllen. Daß das Licht der Leuchtbakterien die Bromsilberplatte zu schwärzen vermag, ist ja seit den Untersuchungen von Fischer[1]) bekannt. Die Schwärzung mußte bei gleichartigem Licht der Intensität der Leuchtquelle parallel gehen. Die Intensität der Schwärzung ließe sich mittels eines eigens hierfür konstruierten Photometers, wie sie zu gewissen optischen Messungen gebräuchlich sind, bestimmen, und damit war dann im Prinzip die Methode gegeben, um die Lichtintensität verschiedener Kulturen vergleichsweise auszuwerten, wie das übrigens bereits Molisch vorgeschlagen hat. Dadurch, daß man einen Teil der Platte einem Vergleichslicht von bekannter Intensität gleich lange Zeit aussetzte, war auch die Möglichkeit, absolute Werte durch die Messung zu erhalten, gegeben. Diese konnten freilich nur annähernde sein, da die chemische Wirkung der Strahlen eines Normallichtes natürlich von der der Leuchtbakterien verschieden ist und deshalb die Intensität der Schwärzung mit der Intensität der sichtbaren Strahlen keineswegs parallel zu laufen braucht.

Der Apparat, dessen wir uns zu unserer Aufnahme bedienten, war von dem Mechaniker des physikalischen Instituts, Herrn W. Prill, angefertigt. Er besteht aus einer in ein Stativ vertikal einzustellenden geschwärzten Metallplatte, in deren Mitte sich ein 4 mm breiter Spalt befindet. Auf der Rückseite trägt diese Metallplatte oben und unten einen Falz, in den die mit der lichtempfindlichen Platte beladene Kassette verschiebbar einzufügen ist. Der Kassettenrahmen hat am unteren Rande eine Zähnelung, in die eine an dem Metallplattenfalz befestigte Feder eingreift. Dadurch ist es möglich, die Kassette so an dem Spalt vorbeizuführen, daß in regelmäßigen Abständen dem Ausschnitt der Metallplatte entsprechende Teile der photographischen Platte nach Ausziehen des Kassettenschiebers belichtet werden können. Auf diese Weise kann man die in einem Vergleichsversuch benutzten Kulturen auf verschiedene Stellen ein und derselben Platte einwirken lassen. Dadurch lassen sich Fehlerquellen, wie sie durch das ungleiche Material der Platten und durch Differenz in der Zusammensetzung und Temperatur des Entwicklers und der Zeit der Entwickelung entstehen, vermeiden.

Ein Versuch mit diesem Apparat gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen: Die Kulturen, Bouillon- oder Agarröhrchen oder Agarplatten wurden stets in derselben Entfernung von dem Spalt mit der Metallplatte parallel aufgestellt, und durch Herausziehen des Schiebers wurde ein dem Spalt entsprechender Ausschnitt der lichtempfindlichen Platte[2]) in jedem Versuch gleich lange Zeit exponiert. Bei der Verwertung von Agarröhrchen, mit denen der Versuch vorwiegend angestellt wurde, war natürlich darauf zu achten, daß die Röhrchen genau von gleicher Weite und Dicke der Wandung, sowie gleichmäßig gefüllt waren, dasselbe gilt ceteris paribus für Agarplatten und Bouillonröhrchen. Bei ersteren kommen zudem die störenden Momente, wie sie bei Versuchen mit Röhrchen durch ungleiche Krümmung und Beschaffenheit des Glases gegeben sein können, überhaupt in Wegfall. In den einzelnen Versuchen wurde stets gleich lange, in der Regel 10—20 Minuten, exponiert. Die Entfernung der leuchtenden Fläche von der Platte betrug

1) Ibid. Bd. III. p. 140.

2) Es wurden ausschließlich die sehr empfindlichen Platten nach Prof. Miethe und Dr. Traube von Perrutz-München benutzt.

in allen Versuchen 30 mm. Das Vergleichslicht, als welches die 10 mm hohe Flamme der genau regulierbaren Benzinlampe des Weberschen Photometers benutzt wurde, ließen wir gleich lange wie die Leuchtkulturen, aber aus einer Entfernung von 4 m auf die Platte einwirken. Die Figur 1 zeigt eine derartig belichtete Platte; Expositionszeit 15 Minuten; Entfernung der Agaroberfläche 30 mm, des Normallichtes 4 m von der lichtempfindlichen Platte. Die Streifen entsprechen der Schwärzung, wie sie durch die einzelnen Kulturen hervorgerufen wurden:

No. I.	Agarröhrchen mit 1,0 Schimmelbouillon	Alle Agarflächen gleichmäßig mit Leuchtbakterien besät
„ I A.	„ „ 1,0 Kontrollbouillon gleicher Reaktion	
„ II.	„ „ 0,25 Schimmelbouillon und 0,75 Bouillon	
„ II A.	„ „ 0,25 Kontrollbouillon gleicher Reaktion, 0,75 Bouillon	
„ III.	Vergleichslicht.	



I IA II IIA III

Fig. 1.



Fig. 2.

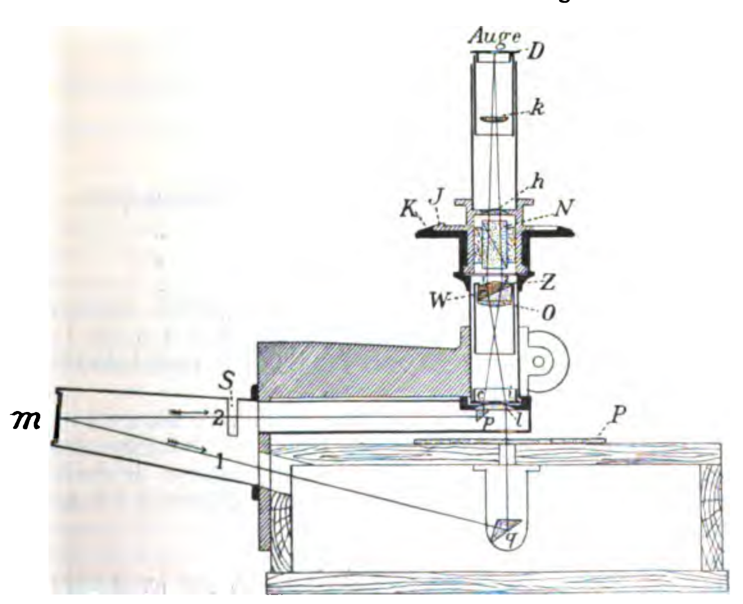


Fig. 3.

Zur Ausmessung der Schwärzung stellte Herr Prof. Schmidt, Direktor des physikalischen Instituts der Königsberger Universität, uns in liebenswürdigster Weise den von F. F. Martens[1]) konstruierten Apparat zur Bestimmung der Schwärzung photographischer Platten zur Verfügung. Wir sind Herrn Prof. Schmidt für die große Liebenswürdigkeit und Bereitwilligkeit, mit der er uns durch Rat und Tat unterstützte, zu größtem Danke verpflichtet.

Der Apparat mißt die Lichtschwächung, die durch die Schwärzung der photographischen Platte bedingt ist; Fig. 2 zeigt die Konstruktion, Fig. 3 die innere Einrichtung. Auf der oberen Platte des Kastens liegt die zu untersuchende photographische Platte *P*. Von der durch eine Glühlampe oder Auer-Lampe beleuchteten Milchglasplatte *m* tritt ein Teil der Strahlen (*2*) direkt nach Reflexion an der versilberten Hypotenuse des Prismas *p* durch die Oeffnung *c* in das Photometer, der andere Teil (*1*) durch die Oeffnung *i*, nachdem er nach Reflexion im Prisma *q* die zu untersuchende Platte *P* hat durchlaufen müssen; beide Strahlenbündel sind vorher durch die Linse *l* konvergent gemacht worden. Dem Beobachter erscheinen die Felder *1* bezw. *2* des Zwillingsprismas durch die Oeffnungen *i* und *c* hindurch beleuchtet; durch Drehen des Analysatornikols *N* stellt er gleiche Helligkeit beider Felder her und liest dann am Teilkreis *K* mittels des Index *J* den Winkel α ab, um welchen das Analysatornikol *N* aus der Stellung, in welcher das Feld *1* ausgelöscht war, herausgebracht worden ist. Die Lichtmenge *J*, welche durch die Oeffnung *i* in das Photometer eingetreten ist, berechnet sich nach der Formel $J = c \cdot \mathrm{cotg}^2 \alpha$.

Legt man eine geschwärzte photographische Platte auf den Tisch, so wird das Lichtbündel *1* geschwächt, die in *i* eintretende Lichtmenge sei jetzt J^1; dann ist $J^1 = c \cdot \mathrm{cotg}^2 \alpha^1$ und $\frac{J}{J^1} = \frac{\mathrm{tg}^2 \alpha^1}{\mathrm{tg}^2 \alpha}$.

Die Messung der Lichtschwächung nach dieser Methode ergab folgende Werte für die Lichtstärke der einzelnen Leuchtröhrchen in Amylacetatkerzen[2]):

Leuchtröhrchen	I	0,00000377
„	Ia	0,00000236
„	II	0,00000301
„	IIa	0,00000230

oder auf Normalkerzen bezogen:

Leuchtröhrchen	I	3,08millionstel	Normalkerzen
„	Ia	1,93 „	„
„	II	2,46 „	„
„	IIa	1,88 „	„

Die leuchtende Fläche jedes Röhrchens, welche exponiert wurde, war rund 450 qmm groß; die Helligkeit, die von 1 qmm Leuchtfläche ausging, betrug demnach z. B. bei Röhrchen I 0,0000000068 Normalkerzen.

Die Werte sind im allgemeinen 10-fach höhere als nach der Methode von Lode; es dürfte das, abgesehen von der abweichenden Methode, auf originäre Helligkeitsdifferenzen der verwendeten Kulturen zurückzuführen sein; der von uns in der mitgeteilten Messung benutzte Stamm

1) Photographische Korrespondenz. 1901. p. 528.

2) Die Messung der Vergleichsbenzinflamme ergab auf photometrischem Wege $^1/_{17}$ Amylacetat.

Fickers und ebenso die Molischsche Kultur zeigten an sich schon eine bedeutend höhere Leuchtkraft als die Vibrionenkulturen, die uns Lode zur Verfügung gestellt, und die er auch für seine Messungen verwandt hatte.

Unsere Zahlen bestätigen uns durch eine objektive Methode die subjektive Beobachtung von dem günstigen Einfluß der Schimmelkulturen auf die Leuchtkraft von Leuchtbakterienkulturen. Wir haben bereits erwähnt, daß für die Vermehrung der Lichtintensität zwei Faktoren in Betracht kommen, die Reaktionsänderung und unbekannte vitale Leistungen der Schimmelpilze anderer Art. Den Einfluß beider Momente lassen unsere Messungen deutlich erkennen.

Vergleicht man Röhrchen I mit Ia, von denen das letztere eine Korrektur der Reaktion erfahren hatte, so tritt der Einfluß des zweiten Faktors allein zutage, durch den eine Erhöhung der Leuchtkraft um $1^3/_4$ bewirkt wird. Bei Vergleich von Ia und IIa gibt sich der an sich geringere Einfluß der Reaktion zu erkennen; Ia mit vollständiger Korrektur der Reaktion zeigt eine höhere Leuchtkraft als IIa. Wenn beide Leistungen der Schimmelpilze gleichzeitig in Aktion treten, so findet eine Erhöhung der Lichtintensität um fast das Doppelte statt, vergl. I und IIa; der Unterschied wäre ein noch deutlicherer, wenn nicht in IIa die Reaktion der Bouillon gleichfalls zum Teil korrigiert wäre.

Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute (Vorstand: Professor Dr. A. Weichselbaum) und dem Karolinen-Kinderspitale (Vorstand: Privatdozent Dr. W. Knöpfelmacher) in Wien.]

VI. Ueber anaërobe Bakterien bei Diphtherie.

Von Dr. **Karl Leiner,** emerit. Assistent des Karolinen-Kinderspitales.

Mit 1 Tafel.

Mit der Polymorphie des klinischen Bildes der Diphtherie in einem gewissen Einklange stehen die verschiedenen mikroskopischen Bilder, die sich bei der Untersuchung der Beläge ergeben. Hier sind mit besonderer Berücksichtigung der Mikroorganismen zwei Haupttypen einander gegenüber zu stellen, nämlich die reine Diphtherie und die Mischform der Diphtherie, die sich auch in der Beschaffenheit der Beläge neben zahlreichen anderen Merkmalen von einander unterscheiden.

Während bei der reinen Diphtherie (diphthérie pure Marfan) vorwiegend der fibrinöse und fibrinös-zellige Charakter des Exsudates in den Vordergrund tritt und die Diphtheriebacillen überwiegen, manchmal fast ausschließlich vorhanden sind, tritt bei der Mischform der nekrotisch-entzündliche oder auch der diphtheritische Charakter des Exsudates hervor, das immer ein reichhaltiges Bakteriengemenge zeigt. Zu dieser letzteren Mischform der Diphtherie gehört nicht allein die sogenannte septische Diphtherie, die wegen ihres häufig ungünstigen Verlaufes heute noch trotz der Serumtherapie mit Recht gefürchtet ist, sondern auch eine

mehr benigne Form, eine lokalisierte Rachendiphtherie mit geringen toxischen Erscheinungen (Escherich), die klinisch mit der septischen Diphtherie eigentlich nur ein Symptom gemeinsam hat, nämlich den foetor ex ore, in allen übrigen Punkten von derselben vollständig abzutrennen und nach Marfan der Gruppe der angines blanches à charactères mixtes beizurechnen ist. Im mikroskopischen Bilde dagegen zeigen diese beiden Formen, die wir als schmierige gutartige und gangränöse septische Diphtherie bezeichnen, in der Zusammensetzung der Beläge als auch in dem Gemenge der Mikroorganismen eine große Uebereinstimmung. Die Frage der Bedeutung der Bakterienassociation, auf die namentlich bei der septischen Diphtherie von den verschiedensten Autoren immer wieder aufmerksam gemacht wurde, ist bis heute als noch nicht gelöst zu betrachten..

In erster Linie waren es die Streptokokken, auf die sich das Hauptaugenmerk der Untersucher lenkte. Französische Autoren waren die ersten, die auf die Bedeutung der Streptokokkenbefunde bei Diphtherie hinwiesen. So beschrieb auf Grund der Untersuchung der Rachenbeläge Barbier neben der angine toxique diphthéritique pure eine angine diphthéritique streptococcique, deren bösartigen Verlauf er auf den vorhandenen Streptococcus zurückführte.

Zahlreiche Untersuchungen nach ihm konnten seinen Befund bestätigen; sie alle, mit wenigen Ausnahmen, stimmen darin überein, daß diese Symbiose von besonderer Bedeutung für den perniciösen Verlauf der Erkrankung sei, sei es, daß durch die Streptokokken die Virulenz der Diphtheriebacillen gesteigert wird (Roux und Yersin), sei es, daß die Stoffwechselprodukte der Streptokokken die Empfänglichkeit des Organismus für das Diphtheriegift erhöhen (Escherich) und so das schwere Krankheitsbild herbeiführen. Gegenüber dieser Annahme von einer besonderen Bedeutung der Streptokokken für die Schwere der Erkrankung steht die Auffassung Heubners, der hauptsächlich auf Grund der Untersuchungen seines Schülers Genersich in diesen Streptokokken ziemlich belanglose Saprophyten sieht und nach dessen Meinung die septische Form der Diphtherie oder, wie Heubner sie nennt, die diphtheria gravissima, nichts anderes ist, als der Ausdruck der schlimmsten Wirkung des Diphtheriegiftes.

Die oben angeführten Untersuchungen Genersichs haben nämlich ergeben, daß nur in einem kleinen Prozentsatze der schweren Diphtherien sich Streptokokken im Blute der Kranken nachweisen lassen. Dieser Befund steht im Widerspruche zu den Untersuchungsresultaten einer ganzen Reihe anderer Autoren, vor allem Bernheims, welcher in mehr als 50 Proz. von septischen Diphtherien Streptokokken im Blute und in den Organen finden konnte. Daß wir in diesen Streptokokken keine für den Erkrankungsprozeß belanglose Mikrorganismen vor uns haben, beweisen die Versuche Dungerns, die uns gezeigt haben, daß bei gleichzeitiger Injektion von Streptokokken und Diphtheriebacillen es nur dann zu einer Blutinvasion mit Streptokokken kommt, wenn die Kokken an und für sich virulent sind, daß dagegen bei Vornahme des Versuches mit nicht virulenten Streptokokken diese Invasion ausbleibt.

Nach der Annahme Bernheims können die Streptokokken auch dann an der Schwere der Erkrankung beteiligt sein, wenn ihr Nachweis im Blute nicht gelingt, sie aber reichlichst in den Membranen zu finden sind. Ihre Stoffwechselprodukte können in solchen Fällen in den Orga-

nismus eindringen und die Widerstandskraft desselben gegen das Diphtherietoxin wesentlich herabsetzen.

Der Befund von Streptokokken in den Membranen berechtigt nicht zur Stellung einer ungünstigen Prognose, da ja auch in einer ganzen Reihe gutartig verlaufender Fälle sich diese Kokken in reichlicher Menge in den Belägen vorfinden. Nicht der Befund allein, sondern die Virulenz, die lokale und allgemeine Disposition, ist hier ausschlaggebend. Daß neben den Streptokokken auch andere Mikroorganismen mitunter für die malignen Krankheitserscheinungen verantwortlich sein können, beweisen die Befunde von Marfan, der in einer schweren Diphtherieepidemie im Jahre 1901—1902 im Blute und in den Organen der Kranken einen Diplococcus fand, dessen Symbiose mit dem Diphtheriebacillus die Perniciosität der Epidemie herbeigeführt haben soll, während andere Autoren wieder, so Kühnau, Emmerich, Escherich, auch Bernheim, anderen Bakterien eine ätiologische Bedeutung für die betreffenden Epidemien zusprechen. So hat Emmerich häufig den Bacillus pyogenes foetidus in den Membranen gefunden, Escherich denselben Bacillus auch in den inneren Organen, insbesondere in den Lungenherden nachweisen können, Bernheim in vereinzelten Fällen ein zur Gruppe des Bacterium coli gehörendes, bewegliches Kurzstäbchen und Kühnau in einer kleinen Epidemie den Bacillus proteus neben dem Diphtheriebacillus beobachtet.

Mit allen diesen eben erwähnten Bakterien ist die Zahl der in den Membranen zahlreicher Diphtherien vorhandenen keineswegs erschöpft. So macht Bernheim darauf aufmerksam, daß man sehr häufig in den Diphtheriemembranen, namentlich wenn es sich um Foetor ex ore aufweisende Fälle handelt, in großer Menge ein schlankes, dünnes, an beiden Seiten zugespitztes Stäbchen sich findet, welches meist als Diplobacillus gelagert und häufig gekrümmt erscheint; mit diesem vereint oder auch ohne dasselbe können neben anderen Mikroorganismen auch der Bacillus fusiformis und die Spirochaete dentium vorhanden sein. Diesen beiden letzten Bakterien wird eine besondere ätiologische Rolle bei einer mit Ulceration einhergehenden Gruppe von Munderkrankungen zugeschrieben. Hierher gehört vor allem die Angina ulcerosa membranacea und die Stomatitis ulcerosa. Plaut war der erste, der bei einigen diphtherieverdächtigen Fällen, die durch einen besonders unangenehmen Geruch hervorstechen, in den Belägen längere, an den Enden zugespitzte Stäbchen und Spirochäten bemerkte, den Diphtheriebacillus aber bei denselben völlig vermißte.

Plauts wichtiger Befund wurde erst durch die Publikationen Vincents, dem wir zahlreiche grundlegende Arbeiten über diese Angina und mit ihr zusammenhängende Krankheiten verdanken, von neuem aufgenommen und zu der ihm gebührenden Bedeutung gebracht. Vincent hob zunächst hervor, daß nicht nur der Diphtheriebacillus allein im stande ist, Pseudomembranen zu bilden, sondern auch andere Bakterien, die mit dem Diphtheriebacillus nicht in eine Gruppe gehören und zu denen der Bacillus fusiformis zu rechnen ist. Dieser Bacillus findet sich hauptsächlich bei zwei Anginaformen, die sich nicht wesentlich voneinander unterscheiden: einmal bei der diphtheroiden Angina, bei welcher die ganz oberflächlich erodierte Tonsille mit einem pseudomembranösen, grauen, mäßig dicken Belag bedeckt ist. Im weiteren Verlaufe wird der Belag weicher und verschwindet innerhalb weniger Tage vollständig. In demselben findet sich beinahe immer der Bacillus fusiformis in

Reinkultur vor, während bei der zweiten Form der Angina, der ulcerösen, der Bacillus immer mit einer Spirochäte vereinigt ist. Das Exsudat ist weich, grau bis graubraun, kreidig und übelriechend, bei Berührung leicht blutend. Das Charakteristische dieser Erkrankung ist, daß gewöhnlich nur eine Tonsille mit Schwellung der dazugehörigen Submaxillardrüse erkrankt und in der Regel das Allgemeinbefinden nicht sonderlich gestört ist. Die Temperaturerhöhung, die sich bei Beginn der Erkrankung fast immer einstellt, fällt innerhalb weniger Tage zur Norm ab.

An diese grundlegenden Arbeiten schloß sich rasch eine Reihe anderer Abhandlungen zahlreicher Autoren, die im allgemeinen eine Bestätigung der Vincentschen Angaben enthielten, zum Teil auch manches neue bezüglich der Morphologie der Bakterien und ihrer Kultivierung brachten.

Von besonderem Interesse waren zunächst die Befunde von Bernheim und Pospischill bei Stomatitis ulcerosa (Stomakake). Schon im Jahre 1889 hatte Frühwald in den Präparaten der Stomatitis ulcerosa zahlreiche leptothrixartige Fäden und feine Spirochätenformen, ferner dünne, kurze und lange dünne, gerade oder gekrümmte Bacillen neben Kokken verschiedener Größe gesehen und gefärbt. Wenn auch Frühwald sicher in dem Bakteriengemenge den Bacillus fusiformis und die Spirochäte vor sich gehabt hat, so gebührt doch Bernheim und Pospischill das große Verdienst, als die ersten auf den konstanten gleichartigen Befund bei der ulcerösen Stomatitis hingewiesen und die Gleichartigkeit der Zahnfleisch- und Tonsillenerkrankung hervorgehoben zu haben. Weitere Beobachtungen belehrten uns, daß ein solcher Befund nicht nur bei diesen Stomatitiden erhoben werden kann, welche wahrscheinlich von kariösen Zähnen ausgehen, in denen der Bacillus und die Spirochäte nach der allgemein bestätigten Angabe Millers vorkommen und vegetieren, sondern auch bei anderen, durch chemische Reize entstandenen Mundentzündungen, die mit einer Auflockerung und starken Hyperämie des Zahnfleisches oder der ganzen Mundschleimhaut einhergehen. Dieses so veränderte Gewebe scheint einen guten Nährboden für die im Munde vorhandenen Bacillen abzugeben, die dann einen geschwürigen Zerfall des Gewebes herbeiführen können. Hierher gehören die Beobachtungen von Löblowitz, Rona, Müller und Scherber, die bei der merkuriellen Stomatitis diese beiden Mikroorganismen nachweisen konnten. Daß es auch in einer durch andere chemische Reize entstandenen Mundentzündung zu einer Wucherung dieser Bacillen kommen kann, hatte ich bei einem Falle zu sehen Gelegenheit. Ein 4-jähriges Kind hatte sich durch Trinken von Kalilauge eine ziemlich heftige Verätzung der ganzen Mundschleimhaut zugezogen. Am 4. Tage begann die Abstoßung der weißen Schorfe vom Zahnfleisch und zugleich ein ulceröser Zerfall derselben, der mit einem intensiven Foetor einherging. Die mikroskopische Untersuchung ergab das gewöhnliche Bild der ulcerösen Stomatitis. In einem zweiten Falle kam es infolge des Genusses einer heißen Flüssigkeit zu einer leichten Verbrühung der Mundschleimhaut und Auflockerung des Zahnfleisches. Auch hier kam es nach einigen Tagen zu einem geschwürigen Zerfall des Zahnfleisches mit dem typischen bakteriologischen Befunde von reichlichsten Bacillus fusiformis- und Spirochätenformen. Diese beiden Fälle weisen darauf hin, daß alle Reize, seien sie chemischer oder anderer Natur, welche zur Auflockerung des Zahnfleisches führen, einen günstigen Nährboden für diese Mikroorganismen abgeben können. An diese Mund-

entzündungen reihen sich schwere gangränöse Prozesse der Mundhöhle, zu denen auch die Noma zu rechnen ist, die nach dem bakteriologischen und histologischen Bilde, nach manchen klinischen Eigenheiten, ihre Zugehörigkeit zu einer gemeinsamen Gruppe der ulcerösen Mundentzündungen dokumentieren (Rona, Buday, Matzenauer u. s. w.).

Bei allen diesen ulcerösen Mundprozessen sind diese beiden Mikroorganismen, der Bacillus fusiformis und die Spirochäte, fast in Reinkultur und wenigstens im überwiegenden Maße vorhanden. Es tauchte nun alsbald die Frage auf, ob die fusospirilläre Infektion auch mit anderen Erkrankungen, insbesondere mit Diphtherie, sich kombinieren könne; Vincent selbst stand anfänglich auf dem Standpunkte, den auch z. B. Salomon und Abel teilten, daß Diphtherie und die Spirochäten-Bacilleninfektion einander ausschließen, da der typische stets durch Massenhaftigkeit und Reinheit imponierende bakteriologische Befund der Spirochäten-Bacillenangina jedesmal die Anwesenheit des Diphtheriebacillus vermissen läßt. Als da und dort eine Mitteilung über gemeinsames Vorkommen von Diphtherie, spitzen Stäbchen und Spirochäten auftauchte, wollte Vincent diese Befunde damit erklären, daß der Bacillus fusiformis und die Spirochäte zu den normalen Mundbewohnern gehörend, sich in vereinzelten Exemplaren bei den verschiedenen Anginaformen als auch bei Diphtherie vorfinden könne. Diese Ansicht hat sich in der Folge als nicht richtig erwiesen und Vincent selbst ist heute der Meinung, daß sich in besonderen Fällen von Diphtherie der Bacillus fusiformis reichlichst vorfinden kann und ihm dann eine gewisse Rolle bei der Erkrankung nicht abzusprechen ist. In solchen Fällen kommt es gewöhnlich zu einer mehr weniger tiefen Ulceration des Gewebes und gerade die letztere, die Nekrose der Schleimhaut, ist als Effekt der Spirochäten-Bacilleninfektion anzusehen. Wie bereits früher erwähnt, hat Bernheim schon im Jahre 1898 in seiner interessanten Abhandlung über „Die Pathogenese der schweren Rachendiphtherie" auf das Vorkommen dieser Mikroorganismen hingewiesen. Nach seiner Auffassung handelt es sich in diesen Fällen, die sich durch schmierige seifenartige und übelriechende Beläge auszeichnen und welche bald einen ganz leichten, bald wieder einen malignen Verlauf nehmen können, um Mischformen von Diphtherie und Angina ulcerosa. Auch weiterhin beschäftigten sich andere Autoren mit dieser Symbiose. So berichtet Stoecklin über 2 Fälle, bei denen die mikroskopische Untersuchung fast nur spitze Stäbchen und Spirochäten neben spärlichen anderen Mikroorganismen ergab und erst die Kultur die Anwesenheit des Diphtheriebacillus erkennen ließ. Der erste Fall Stoecklins entspricht in seinem Bilde und Verlaufe der schwersten Diphtherieform. Die Tonsillen waren so stark geschwollen, daß sie sich in der Mittellinie berührten und so die Luftpassage vollständig gehindert war. Beide Mandeln waren mit dicken jauchigen, schmutzig-grauen Membranen bedeckt, die auf einer erodierten Schleimhaut auflagen. Es bestand starker Foetor ex ore. Die Erkrankung führte nach 2 Tagen zum Exitus.

Sowohl in diesem als auch in dem zweiten gutartig verlaufenden Falle konnte Stoecklin in den Kulturen einen Diphtheriebacillus züchten, der in seinen morphologischen Eigenschaften mit dem Löfflerschen Bacillus vollkommen übereinstimmte, im Tierversuche aber sich als avirulent erwies. Stoecklin meint, daß vielleicht der Diphtheriebacillus in solchen Fällen durch die fusospirilläre Symbiose an Virulenz einbüßt und daß der spezifische Bacillus, nachdem er den geeigneten

Boden für die Vermehrung des Bacillus fusiformis und der Spirochäte geschaffen hat, als ätiologischer Faktor zurücktritt und an seine Stelle die beiden anderen Mikroorganismen treten, denen weiterhin die Hauptrolle für den eigenartigen Verlauf der Erkrankung zukommt. Während die bisherigen Autoren hauptsächlich die Symbiose bei Diphtherie hervorgehoben haben, weist Simonin darauf hin, daß bei den verschiedensten Anginen eine derartige Kombination sich einstellen kann, so bei der gewöhnlichen Angina follicularis, beim Scharlach und bei der Diphtherie. Von der letzteren beschreibt Simonin 5 verschiedenartig verlaufende Fälle, die sich so ziemlich alle durch die starke Schwellung der Tonsillen, Uvula und Gaumenbögen, durch den fötiden Mundgeruch und die Form der Beläge charakterisieren. Die mikroskopischen Präparate der Membranen dieser Fälle enthielten immer ein Bakteriengemenge, das aus grampositiven Stäbchen und Kokken, gramnegativen Kokken, spitzen Stäbchen und Spirochäten bestand. Auch Simonin sieht als Effekt der zwei letzteren Mikroorganismen die nach dem Abstoßen der Beläge sich bildende Ulceration der Schleimhaut an; auf diese Weise können sie anderen Mikroorganismen den Weg für eine sekundäre septische Invasion in den Körper öffnen und so von besonderer Bedeutung für den ganzen Krankheitsprozeß werden.

Simonin hat in seinen Fällen durch Kulturen, deren Wichtigkeit er namentlich für die Mischformen hervorhebt, den Diphtheriebacillus nachgewiesen und seine Virulenz durch Tierversuche bestätigt.

Auch Gallois und Courcoux heben die Notwendigkeit der kulturellen Untersuchung selbst in jenen Fällen hervor, in denen die mikroskopischen Bilder völlig der Angina Vincent entsprechen. Nach ihrer Meinung ist selbst die Einseitigkeit der Erkrankung, wie dies fast immer bei der Angina ulcerosa gefunden wird, in differentialdiagnostischer Beziehung nicht maßgebend; in manchen Fällen halten sie es direkt für unmöglich, klinisch mit Sicherheit zu entscheiden, ob die eine oder andere Krankheit vorliegt. Hier muß eben die Entscheidung durch die Kultur erfolgen.

Auch Beitzke, Groß, Baron berichten über einzelne Fälle von Diphtherie und Spirochäten-Bacilleninfektion.

Mit Ausnahme von Bernheim halten die verschiedenen Autoren das Auftreten dieser Mischform für recht selten.

In Uebereinstimmung mit Bernheim müssen wir diese Symbiose von Diphtherie und fusospirillärer Affektion als recht häufig ansehen. Die gewöhnlich geübte Färbemethode der Beläge nach Löffler erweist sich zur Erkenntnis der Mischform als nicht ganz geeignet; zur feineren und exakten Bestimmung des bei diesen Diphtheriefällen fast immer vorhandenen Bakteriengemenges ist der Gramschen Methode der Vorzug zu geben. Unsere Hauptaufmerksamkeit war zunächst auf die Anwesenheit des Bacillus fusiformis und der Spirochäte gerichtet. Die Morphologie dieser beiden Mikroorganismen ist ziemlich gut bekannt. In einer überaus übersichtlichen Zusammenstellung hat Beitzke alles bisher über den Bacillus fusiformis Bekannte mitgeteilt. Nur in 2 Punkten gehen die Angaben der Autoren auseinander: erstens bezüglich der Beweglichkeit des Bacillus, und zweitens bezüglich seines Verhaltens gegenüber der Gramschen Methode. Der größte Teil der Autoren, zu welchen an erster Stelle Vincent selbst gehört, hält den Bacillus für gramnegativ oder zum mindesten für gramunbeständig, indem eine längere Einwirkung des Alkohols zur Entfärbung des Bacillus führt.

Was die Beweglichkeit des Bacillus anbelangt, so wird derselbe von den meisten, auch von Vincent, für unbeweglich gehalten. Da es jedoch Graupner gelungen ist, Geißeln färberisch nachzuweisen, so ist wohl an der Existenz beweglicher fusiformer Stäbchen nicht zu zweifeln. Die genaue Kenntnis der Morphologie ist von besonderer Bedeutung für die Bestimmung der Identität der in der Kultur gezüchteten Bakterien mit den im nativen Präparate gefundenen. Die Züchtung der beiden Mikroorganismen begegnet auch heute noch den größten Schwierigkeiten.

Während von der Spirochäte mit Ausnahme der Angabe Mühlens keine positiven Züchtungsresultate vorliegen, ist es einzelnen Autoren gelungen, den Bacillus fusiformis zum Wachstume zu bringen und ihn in Reinkultur zu züchten. Die meisten Untersucher, besonders jene, die die Kultivierung in flüssigen Nährböden vornahmen, haben nur unreine Kulturen erhalten, bestehend aus dem Bacillus, Kokken und anderen Mikroorganismen. So sah Vincent eine Vermehrung des Bacillus fusiformis in peptonhaltiger Bouillon auftreten, in die ein Stück der diphtheroiden Membran gebracht wurde. Auch in verschiedenen, dem menschlichen Organismus entnommenen Flüssigkeiten gelang es Vincent, den Bacillus zur Anreicherung zu bringen, so in der Spinalflüssigkeit, Pleuraexsudaten, in dem Cysteninhalte der Schilddrüse u. s. w. Immer jedoch waren neben dem Bacillus noch andere Mikroorganismen mitgewachsen. Die Kulturen verbreiteten einen Geruch, der dem der Angina ulcerosa glich.

Niclot und Marotte gelang die Kultivierung des Bacillus durch 3 Generationen in einer Mischung von einem Teile Peptonbouillon mit 3 Teilen frischen menschlichen Blutserums. Allein auch hier kann von einer Reinzüchtung nicht die Rede sein, da in der Nährflüssigkeit auch Staphylo-, Strepto- und Diplokokken, sowie Cladothrixformen mitgewachsen waren. Seitz wieder bezeichnet als geeignetsten Nährboden die gewöhnliche Bouillon, in der er unter Gas- und Gestankentwickelung zu reichlichem Wachstum kommt, während Silberschmidt wieder die besten Resultate mit Bouillon, der er Rinderblutserum zusetzte, erzielte. Uffenheimer hatte mit den bisher angegebenen verschiedenen Bouillonmischungen keine Erfolge. Von der Ansicht ausgehend, daß die bisnun benutzten Nährböden für den Bacillus zu kräftig konzentriert seien, machte er Züchtungsversuche mit einem weniger konzentrierten flüssigen Nährboden, mit sterilem menschlichen Speichel. In solchen flüssigen Speichelnährböden gelang es Uffenheimer, den Bacillus zum Wachstum zu bringen, allein ebenfalls mit Kokkenarten. Die Bacillen ließen sich von Röhrchen zu Röhrchen weiterimpfen und zeigten häufig eine von Uffenheimer für charakteristisch gehaltene Büschelform. Auch ihm gelang es nicht, den Bacillus in Reinkultur zu erhalten oder ihn auf festen Nährböden zum Wachstum zu bringen. Aus diesen verschiedenen negativen Untersuchungsresultaten ergibt sich, daß mittels der gewöhnlichen Kulturmethoden eine Züchtung nicht möglich ist. Auf aërobem Wege ist der Bacillus in Reinkultur nicht zum Wachstum zu bringen. Allein auch mittels des anaëroben Verfahrens sind die Befunde von Reinkultur noch immer spärliche. Im Jahre 1903 hat Lewkowicz über Reinkulturen des Bacillus fusiformis berichtet. Nach ihm gelingt die Züchtung ohne Schwierigkeit unter der Bedingung, daß man zum Nährboden eine womöglich stark eiweißhaltige Ascitesflüssigkeit zusetzt und den Sauerstoffzutritt eliminiert. Nicht der gewöhnliche, sondern ein mit Serum versetzter Zuckeragar eignet sich hierzu am besten.

Ohne Serumzusatz erfolgt kein oder nur spärliches Wachstum. Schon nach 24-stündigem Wachstum im Brutofen erscheint der Nährboden durch mikroskopisch kleine Kolonieen getrübt. Erst nach 2—3 Tagen sind gut separierte Kolonieen zu sehen, die nach 1—2 Wochen einen Durchmesser von beiläufig 2 mm haben können. Die Kolonieen sind rundlich, haben oft eine höckerige, manchmal mit kurzen, haarförmigen Ausläufern versehene Oberfläche. Die Kulturen verbreiten einen widerlichen Geruch. Nur die ganz jungen Kolonieen bestehen aus den regelmäßig geformten Stäbchen; in den älteren Kolonieen tritt die Polymorphie des Bacillus deutlich hervor. Der Bacillus ist zu langen Fäden ausgewachsen oder er bildet spindelförmige, gegen die Enden spitz zulaufende Gebilde. Der Bacillus ist unbeweglich und verhält sich negativ zu Gram. Tieren einverleibt, führt er unter toxischen Erscheinungen zum Tode. Lewkowicz nimmt die Priorität der ersten gelungenen Reinkultur des Bacillus fusiformis für sich in Anspruch, doch haben schon im Jahre 1898 Veillon und Zuber aus einer Reihe von Appendicitisfällen neben zahlreichen anaëroben Bakterien (Bacillus ramosus, Bac. fragilis, Staphylococcus parvulus u. s. w.) auch häufig ein Stäbchen kultivieren können, das sie mit dem Bacillus fusiformis Vincent identifizierten. Dieses Stäbchen behält nach den Beobachtungen der genannten Autoren in den Kulturen oft die Form bei, die es im nativen Präparate zeigt; es ist ein an den Enden dünn zulaufendes Stäbchen vom Aussehen einer Spindel, oft zu zweien aneinander gelagert (Diplobacillus).

Bisweilen wächst er unter Bildung von Involutionsformen zu längeren Fäden aus. Er verhält sich negativ zur Gramschen Färbung und ist unbeweglich. Sein Wachstum erfolgt rasch bei einer Temperatur von 37° C, langsam bei Zimmertemperatur. In Bouillon wächst er unter Trübung der Flüssigkeit und Bodensatzbildung und Entwickelung eines übelriechenden Gases. In der Gelatine bildet er kleine graue Kolonieen mit glatten Rändern ohne Verflüssigung des Nährbodens. In Zuckeragar treten schon nach 24 Stunden kleine weiße Kolonieen auf, die späterhin grau, braun, opak, linsenförmig werden. Auf der Agaroberfläche ist sein Wachstum dem Coli-Bacillus ähnlich. Die Gasbildung in Agar ist gering. Der Bacillus bildet keine Sporen und bleibt 4—5 Tage lebensfähig. Rodella, der sich in eingehender Weise mit den anaëroben Mundbakterien und ihrer Bedeutung befaßt, hält das von Veillon und Zuber gezüchtete Stäbchen nicht für den Bacillus fusiformis, sondern für ein demselben ähnliches Bakterium. Nach seiner Erfahrung läßt sich der Bacillus fusiformis mitunter leicht aus einem Material, in dem er vorwiegend vorhanden ist, reinzüchten (Anginaabscesse), doch ist in jedem Falle zunächst eine Anreicherung in flüssigen Nährmedien vorzunehmen und erst von hier auf feste Nährmedien zu überimpfen. Nach Rodella zeigen die Kolonieen des Bacillus fusiformis auf erstarrtem Blutserum ein filzig verzweigtes Aussehen. Auf der Oberfläche von Ascitesagar bildet er streptokokkenähnliche Kolonieen; auf gewöhnlichem Agar bleibt das oberflächliche Wachstum gewöhnlich aus. In tiefem Agar dagegen kommt es bei reichlicher Aussaat zu üppigem Wachstum unter starker Gasbildung, besonders dann, wenn der gewöhnliche Agar durch Hinzufügen von Bouillon weich gemacht wird. In einem Substrat, bestehend aus kleinen Würfeln von geronnenem, sterilisiertem Rinderblutserum, mit sterilem Wasser hergestellt, wächst der Bacillus unter Erzeugung eines

unangenehmen Geruchs. Am besten gedeiht er nach Rodella in flüssigen Nährböden, in welchen er watteähnliche Flocken bildet; dies ist in Ascites- und Serumbouillon, wie auch in der Bouillon nach Martin der Fall.

Er kann auch in einfacher Bouillon zum Wachstum kommen, in welcher er zur Gasbildung führt, während dieselbe bei dem nur spärlich stattfindenden Wachstume in Zuckerbouillon ausbleibt. Nach Rodella entfärbt sich der Bacillus immer nach Gram und ist unbeweglich. Er gedeiht nur unter streng anaëroben Verhältnissen.

In seiner Arbeit über bakterielle Nekrose bei Menschen berichtet Ellermann über die Reinzüchtung des Bacillus fusiformis.

Das eine Mal gelang es ihm den Bacillus direkt aus einer Angina zu züchten, das andere Mal auf indirektem Wege aus einem Tierabscesse. Von einer Stomatitis gangraenosa wurden Membranstückchen Kaninchen subkutan eingeimpft. Es bildeten sich nekrotische Abscesse, die neben anderen Mikroorganismen auch den Bacillus fusiformis reichlich enthielten. Kulturen, die mit diesem Eiter angelegt wurden, führten zu keinem Resultate, insofern als die Kolonieen ein Bakteriengemenge enthielten. Mit diesen Mischkolonieen wurden neuerdings Kaninchen subkutan geimpft. Es entstanden Abscesse, in denen gewöhnlich verschiedene Bakterien gefunden wurden. Nur bei einem Tiere war in einem solchen Abscesse der Bacillus rein vorhanden. Weiterimpfungen von Tier zu Tier wurden 7mal mit Erfolg ausgeführt. Zur Züchtung des Bacillus verwendete Ellermann hochgeschichteten Serumagar (1 Teil Agar, 2 Teile flüssiges Pferdeserum); nach ca. 36 Stunden sind kleinste Kolonieen gewachsen, die wie Büsche aussehen, die von den Eiweißklümpchen des Nährbodens auswachsen. Die Farbe der Kolonieen ist gelblich, die Form prismatisch. Die Kulturen riechen etwas unangenehm, Gasbläschen werden nur bei dichter Aussaat und nur in spärlicher Menge gebildet. In Serumbouillon bilden sich nach 24 Stunden weiße Flocken, die zu Boden sinken, während die Flüssigkeit selbst klar bleibt. Auf der Oberfläche von Serumagar wächst der Bacillus streptokokkenähnlich. In gewöhnlicher Bouillon, in Agar, Traubenzuckeragar oder erstarrtem Serum konnte Ellermann niemals ein Wachstum sehen. Ellermann beschreibt den Bacillus als schlankes, ziemlich gerades Stäbchen, dessen Enden oft zugespitzt sind. Die Länge beträgt 5—10 μ; bisweilen werden lange Fäden gebildet. Der Bacillus ist nach Ellermann unbeweglich, sein Verhalten den Farbstoffen gegenüber unregelmäßig. Nach Gram oder Weigert behält er die Färbung bei kurzer Entfärbung. Die Befunde Ellermanns erfahren eine Bestätigung in der Mitteilung von Mühlens, dem es ebenfalls gelungen ist, in serumhaltigen Nährböden den Bacillus rein zu züchten.

Nach den angeführten Arbeiten ist es wahrscheinlich, daß es sich nicht immer um dasselbe Bakterium handeln dürfte, das von den Autoren als Bacillus fusiformis in Reinkultur gewonnen wurde, sondern um verschiedenartige Bacillen, die möglicherweise zu einer gemeinsamen Gruppe gehören könnten. Weitere vergleichende Arbeiten werden über diesen Punkt Aufschluß bringen.

Auch in meinen Untersuchungen, die bereits auf einige Jahre zurückdatieren, befaßte ich mich hauptsächlich mit der kulturellen Bestimmung des Bacillus fusiformis bei Diphtherie und wurde erst im Laufe meiner Arbeit auch auf die Bestimmung anderer anaërober Bakterien bei dieser Erkrankung geführt. Ich begann zuerst damit,

mich über die morphologischen Eigenschaften des Bacillus zu orientieren. Das Material hierzu entnahm ich den zur Beobachtung gelangten Fällen von Angina ulcerosa, da bei diesen der Bacillus fusiformis mit der dazu gehörigen Spirochäte fast in Reinkultur vorkommt. Mein Hauptaugenmerk lenkte ich hierbei besonders auf die zwei strittigen Eigenschaften: die Färbbarkeit nach Gram und die Beweglichkeit. Nach meinen Untersuchungen erscheint der Bacillus fusiformis in sorgfältig gefärbten Gram-Präparaten (Anilin, -wasser-, Gentianaviolett 5 Minuten, Lugol 2 Minuten, Entfärben mit 95° Alkohol so lange, als blaue Farbe abgeht und Nachfärben in mit Wasser verdünnter, alkoholischer Fuchsinlösung durch eine halbe Minute) dunkelviolett gefärbt und zwar sowohl die längeren spindelförmigen, als auch die kurzen, leicht kommaartig gekrümmten Bacillen, die fast bei jedem Falle gemeinsam anzutreffen sind. Im Gegensatze zu den dunkelblau gefärbten Bacillen nimmt die Spirochäte immer die Kontrastfärbung an (Fig. 5). Bezüglich der zweiten strittigen Eigenschaft, der Beweglichkeit, konnte ich mich bei der Untersuchung in hängenden Tropfen jedesmal davon überzeugen, daß der Bacillus eine ziemlich lebhafte Eigenbewegung besitzt; im Gegensatze zu der raschen, schlangenartigen Fortbewegung der Spirochäten bewegt sich der Bacillus langsamer, wackelig, pendelnd vorwärts. Ich habe auf die genaue Kenntnis der Morphologie des Bacillus besonderen Wert gelegt, weil wir bei der Untersuchung von Diphtheriemembranen Bacillen antrafen, die in ihren Eigenschaften zum Teile dem Bacillus fusiformis entsprachen, zum Teile sich aber von demselben unterschieden. Die Fälle, um die es sich hier handelt, sind vor allem jene schwersten Formen, die als septisch bezeichnet werden. Nur selten finden wir hier rein fibrinöse Beläge, gewöhnlich sind dieselben in toto oder wenigstens stellenweise von mehr schmieriger, oft gangränöser Beschaffenheit und verbreiten einen unangenehmen fötiden Geruch. Wir wissen, daß der Diphtheriebacillus allein nicht im stande ist, eine mit üblem Geruche einhergehende Nekrose zu erzeugen, die Ursache hiervon müssen andere, den Diphtheriebacillus begleitende Mikroorganismen sein. Nach den bisherigen Arbeiten kann der Bacillus fusiformis als Ursache der Nekrose, der Bacillus, ebenso die Spirochäte, als Ursache des fötiden Geruches angesehen werden. Wir dürfen aber nicht vergessen, daß auch zahlreiche andere anaërobe Bakterien eine fötide Eiterung herbeiführen können, wie dies Veillon und Zuber bei Appendicitis und Lungengangrän, Rist bei der chronischen Otorrhoe gefunden haben. Diese Autoren haben mit Recht darauf hingewiesen, daß bei den fötiden Eiterungen die zelligen Elemente gegenüber dem Bakteriengemenge in den Hintergrund treten.

(Schluß folgt.)

Beobachtungen über die Bedingungen des Wachstums der obligatorischen Anaëroben in aërober Weise.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie der Jagiellonischen Universität in Krakau (Direktor: Prof. Dr. K. v. Klecki).]

Von **Adam Wrzosek.**

I. Zusammenfassung der bisherigen Untersuchungen über die Züchtung der obligatorischen Anaëroben in aërober Weise.

Vor einem Jahre habe ich in der Wien. klin. Wochenschr. eine Arbeit über die Züchtung der obligatorischen Anaëroben in aërober Weise veröffentlicht. In dieser Arbeit habe ich nämlich meine Beobachtungen mitgeteilt betreffs des Wachstums der obligatorischen Anaëroben in Bouillon, welche ein Stück frischen Tiergewebes enthielt und mit der Luft in Berührung war. Die diesbezüglichen Beobachtungen hatte ich bereits vor einigen Jahren gemacht, veröffentlichte sie aber erst im vorigen Jahre, nachdem ich durch das Erscheinen der Abhandlung von Tarozzi (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905) dazu angeregt wurde. Tarozzi gibt nämlich in dieser Arbeit eine neue Methode der Züchtung der Anaëroben an. Die Methode Tarozzis unterscheidet sich von allen früheren diesbezüglichen Methoden prinzipiell dadurch, daß bei Anwendung derselben die Züchtung von obligatorischen Anaëroben in Kulturmitteln möglich ist, zu welchen der Zutritt von Luft und somit auch von Sauerstoff frei ist. Tarozzi hat nämlich gefunden, daß die Anaëroben auch in den zur Züchtung von Aëroben üblichen Kulturmitteln ebenso gut gedeihen, wenn in den Nährböden zuvor ein frisches tierisches Organstück hineingebracht wird. Doch sind zu diesem Zwecke nicht alle Tierorgane in gleichem Grade geeignet. Am besten wachsen die Anaëroben, wenn im Nährboden ein Stück von einem parenchymatösen Organ, z. B. Niere, Milz, Leber, sich befindet; etwas schlechter, wenn ein Stück von einer Lymphdrüse, noch schlechter, wenn ein Stück von einem Muskel hineingelegt wird. Dieses Wachstum der Anaëroben findet aber nicht nur in einem Kulturmittel statt, in welchem ein frisches tierisches Organstück sich befindet, sondern auch in einem flüssigen Kulturmittel (wie Bouillon), in welchem ein Organstück nur einige Stunden gelegen hatte und vor der Impfung der Anaëroben aus demselben entfernt worden ist. Die Nährmittel werden nach Tarozzi auf folgende Weise zubereitet: Es wird ein vollkommen gesundes Tier (Kaninchen, Meerschweinchen, weiße Maus) getötet und nach aseptischer Eröffnung der Bauchhöhle mittels sterilisierter Schere ca. 1 ccm große Organstücke entnommen. Die Stückchen werden sofort in Reagenzgläser mit Bouillon oder schiefem Agar gebracht und für einen oder 2 Tage in den Thermostaten bei 37° C gesetzt. Nach dieser Zeit werden diejenigen Nährböden, in welchen Mikroben ausgewachsen sind, verworfen, die übrigen dagegen, die also steril geblieben sind, mit obligatorischen Anaëroben geimpft. Letztere entwickeln sich nun in solcher ein frisches Organstück enthaltenden Bouillon oder im Kondensationswasser, das am Boden des Reagenzglases mit schiefem Agar sich befindet und gleichfalls ein Organstück enthält, ausgezeichnet. Die An-

aëroben gelangen in auf obige Weise zubereiteten Nährmitteln auch dann zum Wachstum, wenn diese eine gewisse Zeit nach ihrer Zubereitung geimpft werden. Dagegen wachsen nach Tarozzi die Anaëroben auf solchen Nährböden nicht aus, wenn diese vor der Impfung bis zum Siedepunkt, wenigstens für 5 Minuten, erwärmt werden. Kürzeres Erwärmen beeinträchtigt die Nährmittel nicht in diesem Grade.

Auf Grund der obigen Tatsachen nimmt Tarozzi an, daß in den zellreichen Tiergeweben eine Substanz enthalten ist, welche das Wachstum der Anaëroben bei Anwesenheit von Luft begünstigt. Diese Substanz diffundiert leicht in die Umgebung, in welcher das tierische Organstück sich befindet und erfährt durch die Einwirkung von Hitze — besonders bei Anwesenheit von Sauerstoff — eine Veränderung.

Die oben genannten Beobachtungen Tarozzis stimmen mit den von mir vor einigen Jahren bei den Untersuchungen über die Sterilität der gesunden tierischen Organe gemachten Beobachtungen überein. Ich hatte nämlich damals bemerkt, daß aus einem tierischen Gewebsstücke, das unmittelbar nach der Excision in ein Bouillonrohr gebracht worden ist, zuweilen obligatorische Anaëroben auswuchern[1]). Weitere Versuche mit Ueberimpfung der Anaëroben auf Bouillon, die ein frisches steriles tierisches Gewebsstück enthält, habe ich damals nicht angestellt. Nachdem aber Tarozzi seine neue Methode der Züchtung von Anaëroben veröffentlicht hatte, ging ich sofort daran, diese Methode systematisch zu prüfen. Ich gelangte zu den gleichen Ergebnissen wie Tarozzi, und zwar, daß Anaëroben in gewöhnlicher Bouillon gezüchtet werden können, wenn in derselben ein nicht allzu kleines Stück von einem frischen tierischen Gewebe sich befindet (Wien. klin. Wochenschr. 1905). Nachdem ich dieses Hauptergebnis bestätigt hatte, fand ich ferner, daß obligatorische Anaëroben in der Bouillon auch dann zum Wachstum gelangen, wenn das tierische Organstück, das in der Bouillon eine Zeitlang gelegen hatte, kurz vor der Impfung aus derselben entfernt und die Bouillon tüchtig mit Luft geschüttelt wird.

Nun kam die Frage auf, ob Anaëroben auch in gewöhnlicher Bouillon sich ebenso gut entwickeln werden, wenn in derselben statt des tierischen ein pflanzliches Gewebsstück sich befinden wird. Als ich mit den diesbezüglichen Untersuchungen schon dem Ende nahe war, erfuhr ich aus den weiteren Abhandlungen Tarozzis, die meines Wissens nur in italienischer Sprache veröffentlicht wurden, daß diese Frage bereits erörtert wurde. In der letzten Arbeit von Tarozzi[2]), welche den weiteren Untersuchungen über die Züchtung der Anaëroben in aërober Weise gewidmet ist, fand ich nämlich eine kurze Erwähnung darüber, daß Ori in Siena Kulturen von Anaëroben in Bouillon, welche ein pflanzliches Gewebsstück enthielt, gewonnen hat. Nachher beschäftigte sich auch Tarozzi mit dieser Frage, gelangte aber zu Resultaten, die, wie aus dem weiteren folgt, von den meinigen etwas abweichen. Tarozzi gibt zwar zu, daß Anaëroben in Bouillon, die ein pflanzliches Gewebsstück enthält, sich entwickeln können, fügt aber gleichzeitig hinzu, daß dieselben in diesem Falle nicht so konstant und nicht so üppig auswachsen wie in einer Bouillon, die ein tierisches Gewebsstück enthält. Bei der Aussaat von Anaëroben in eine Kochsalzlösung (statt Bouillon), welche

1) Wrzosek, A., Experimentelle Beiträge zur Lehre von dem latenten Mikrobismus. (Virchows Arch. Bd. CLXXVIII. 1904.)

2) Osservationi sulla natura dei fenomeni che determinano la esigenza anaerobica nelle culture dei germi anaerobici.

ein pflanzliches Gewebsstück enthielt, gewann Tarozzi fast nie eine Kultur der ausgesäten Mikroben. Dagegen erhielt Tarozzi üppige Kulturen von Anaëroben, wenn er dieselben direkt auf ein Tiergewebe impfte oder dieselben in Wasser oder in eine Kochsalzlösung aussäte, wenn diese Kulturmittel ein tierisches Organstück enthielten. Daraus folgert Tarozzi, daß die Anwesenheit von einem pflanzlichen Gewebe im Kulturmittel das Wachstum der Anaëroben nur begünstigt, während das Tiergewebe nicht bloß ihr Wachstum begünstigt, sondern an und für sich einen günstigen Boden für deren Wachstum abgibt.

Ori und Tarozzi haben, soweit ich es aus Tarozzis Beschreibungen entnehmen konnte, die Bouillon resp. Kochsalzlösung, in denen ein pflanzliches Gewebsstück enthalten war, vor der Aussaat der Anaëroben nicht sterilisiert, sondern sie brachten in die Nährmittel frische Pflanzengewebsstücke hinein, ebenso wie dies Tarozzi mit den tierischen Organstücken tat. Ich betone diesen Umstand ausdrücklich, denn dadurch läßt sich — wie ich weiter unten zeigen werde — der Unterschied zwischen den Resultaten der Untersuchungen Tarozzis und den meinigen erklären.

II. Eigene Beobachtungen über das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise in Bouillon, die ein Stück Pflanzengewebe enthält.

Zur Züchtung der Anaëroben bediente ich mich der gewöhnlichen Bouillon, die 1 Proz. Liebigs Extrakt, 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz enthielt. In die so zubereitete Bouillon legte ich ein pflanzliches Gewebsstück hinein und impfte sodann Anaëroben ein. Zu den Untersuchungen benutzte ich 3 Anaërobenarten, und zwar den B. oedematis maligni, den Rauschbrandbacillus und den B. botulinus. Die mit pflanzlichen Gewebsstücken versehenen Bouillonröhrchen impfte ich mit je 3 Oesen einer Bouillonkultur der genannten Anaëroben und setzte sie in den Brütofen bei 37° C. Wenn die geimpfte Bouillon sich trübte und einen üblen Geruch bekam, so impfte ich davon stets je 2 oder 3 Oesen in eine gewöhnliche Bouillon, die sich in einer Röhre unter einer festen Paraffinschicht befand. Letztere Bouillon enthielt fast immer 0,2 Proz. Traubenzucker. Außerdem untersuchte ich die geimpfte Bouillon, wenn dieselbe sich trübte, oft im hängenden Tropfen und in gefärbten Präparaten. Wenn nun die ein pflanzliches Gewebsstück enthaltende und mit einem Anaëroben geimpfte Bouillon sich trübte und einen üblen Geruch bekam, wenn nach der Ueberimpfung in eine Zuckerbouillon unter einer Paraffinschicht und in eine gewöhnliche Bouillon im ersteren Falle sich Gase entwickelten und die Bouillon sich trübte, im anderen Falle aber die Bouillon klar blieb, wenn ferner im hängenden Tropfen zahlreiche bewegliche Bacillen und im gefärbten Präparat viele Bacillen mit oder ohne Sporenbildung sich zeigten, dann hatte ich die Ueberzeugung, daß der geimpfte Anaërobe in der Bouillon mit einem pflanzlichen Gewebsstück sich entwickelt hat.

Anfangs hatte ich die Absicht, zu versuchen, Anaëroben ausschließlich in Bouillon zu züchten, in welcher ein nicht sterilisiertes Kartoffelstück sich befand. Zu diesem Zwecke schnitt ich mit sterilisierter Schere oder Messer aus der Mitte einer Kartoffel Stücke von verschiedener Größe aus, legte dieselben in Bouillonröhren, welche ich dann in den Brütofen bei 37° C setzte, um mich zu überzeugen, ob die Kartoffelstücke steril waren. Da aber die Bouillon in den meisten Röhren sich trübte

und die mikroskopische Untersuchung zahlreiche Bacillen zeigte, so beschloß ich, zu versuchen, Kulturen von Anaëroben anzulegen nicht nur in Bouillon, welche nicht sterilisierte Kartoffelstücke enthielt, sondern auch in solcher, welche vor der Aussaat des Anaëroben samt dem Kartoffelstück im Autoklaven bei 120° C durch 15 Minuten sterilisiert wurde. Gleich die ersten Versuche gaben mir ein überraschendes Resultat. Es zeigte sich nämlich, daß in Bouillon, die samt den Kartoffelstücken sterilisiert wurde, die Anaëroben sich besser entwickelten als in jener, die nicht sterilisierte Kartoffelstücke enthielt. Die Bouillonröhren, die samt den Kartoffelstücken sterilisiert und in den Thermostaten bei 37° C gesetzt wurden, trübten sich nach der Aussaat der Anaëroben früher und stärker als jene Bouillonröhren, die nicht sterilisierte Kartoffelstücke enthielten und mit eben denselben Anaëroben geimpft wurden. Ferner zeigte es sich, daß die Anaëroben, welche in die samt den Kartoffelstücken sterilisierten Bouillonröhrchen gesät worden waren, in ihrem Wachstum alle Entwickelungsphasen bis zur Sporenbildung durchgemacht haben, während die in die Bouillonröhren mit nicht sterilisierten Kartoffelstücken geimpften Anaëroben bei ihrem Wachstum viel seltener Sporen bildeten. Ich impfte daher im weiteren die Anaëroben nur in Bouillon, die zuvor samt den Kartoffelstücken bei 120° C durch 15 Minuten sterilisiert wurde. Aber auch in dieser waren die Anaërobenkulturen nicht immer von gleicher Ueppigkeit. Manchmal trübte sich die Bouillon sehr schnell und stark, ein anderes Mal dagegen schwächer und nur in der unteren Schicht. Als ich darauf meine Aufmerksamkeit lenkte, bemerkte ich, daß die Anaëroben in Bouillonröhren, die ein größeres Kartoffelstück enthielten, besser wuchsen als in jenen mit kleinen Kartoffelstücken. Um genauer zu bestimmen, welche Kartoffelmenge unentbehrlich sei, um in der Bouillon Anaëroben züchten zu können, säte ich in mehrere Bouillonröhren, die ungefähr gleiche Bouillonmengen (ca. 10 ccm) und verschieden große, aber genau abgewogene Stücke von jungen, heurigen oder alten Kartoffeln enthielten, Anaëroben aus. Vor der Aussaat wurden die Bouillonröhren samt den in denselben enthaltenen Kartoffelstücken im Autoklaven bei 120° C durch 15 Minuten sterilisiert, und die Impfung geschah gleich nach der Abkühlung. Es zeigte sich nun, daß die Größe des in der Bouillon enthaltenen Kartoffelstückes nicht von geringer Bedeutung ist. Enthielt die Bouillon nämlich Stücke von 0,1, 0,2 oder 0,3 g — gleichgültig ob von jungen oder alten Kartoffeln — so wuchsen die gesäten Anaëroben niemals aus. Enthielt die Bouillon etwas größere Kartoffelstücke, z. B. 0,4 oder 0,5 g, so gelangten die Anaëroben manchmal zum Wachstum. Dagegen wurden stets Anaërobenkulturen gewonnen, wenn die Bouillon Kartoffelstücke von 1,0 g oder mehr enthielt (Tab. I). Der Zuckergehalt der Bouillon ist hierbei von keiner merklichen Bedeutung, denn sowohl die Impfung in gewöhnliche Bouillon wie in Zuckerbouillon ergaben — bei gleichen Kartoffelstücken — gleiche Resultate.

Nun kam es darauf an, zu entscheiden, ob nicht auch die Bouillonmenge hierbei von Bedeutung sei. Um das zu ermitteln, impfte ich einige Reihen von Reagenzgläsern, welche verschiedene Bouillonmengen, aber gleiche Kartoffelstücke enthielten, mit Anaëroben ab. Es zeigte sich, daß auch die Bouillonmenge nicht ohne Bedeutung ist. Während nämlich in den Röhren mit 10 ccm Bouillon und 0,3 g Kartoffel niemals eine Kultur von Anaëroben auswuchs, wurden dagegen in manchen

Tabelle I.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) Bouillon mit 0,1 g von einer alten Kartoffel	B. oedematis maligni	0	
2) " " 0,1 " " " " "	"	0	
3) " " 0,2 " " " " "	"	0	
4) " " 0,2 " " " " "	"	0	
5) " " 0,3 " " " " "	"	0	
6) " " 0,4 " " " " "	"	+	1
7) " " 0,5 " " " " "	"	0	
8) " " 0,5 " " " " "	"	+	1
9) " " 1,0 " " " " "	"	+	1
10) " " 2,0 " " " " "	"	+	1
11) " " 0,1 " " " jungen (heurigen) Kartoffel	"	0	
12) " " 0,2 " " " " " "	"	0	
13) " " 0,3 " " " " " "	"	0	
14) " " 0,4 " " " " " "	"	0	
15) " " 0,5 " " " " " "	"	0	
16) " " 1,0 " " " " " "	"	+	1
17) Zuckerbouillon (0,2 %) mit 0,1 " " " alten Kartoffel	"	0	
18) " (0,2 %) " 0,2 " " " " "	"	0	
19) " (0,2 %) " 0,5 " " " " "	"	+	2
20) " (0,2 %) " 1,0 " " " " "	"	+	1
21) Bouillon mit 0,1 " " " jungen Kartoffel	B. botulinus	0	
22) " " 0,2 " " " " "	"	0	
23) " " 0,3 " " " " "	"	0	
24) " " 0,4 " " " " "	"	0	
25) " " 0,5 " " " " "	"	0	
26) " " 1,0 " " " " "	"	+	1
27) " " 3,0 " " " " "	B. oedematis maligni	+	1
28) " " 3,0 " " " alten Kartoffel	"	+	1
29) Zuckerbouillon mit 3,0 " " " " "	"	+	1
30) Bouillon mit 0,1 " " " jungen Kartoffel	Rauschbrandbacillus	0	
31) " " 0,2 " " " " "	"	0	
32) " " 0,3 " " " " "	"	0	
33) " " 0,4 " " " " "	"	0	
34) " " 0,5 " " " " "	"	0	
35) " " 1,0 " " " " "	"	+	4
36) " " ca. 1,0—1,5 " " " " "	"	+	8

Röhren mit 0,3 g Kartoffel und kleineren Bouillonmengen (nicht über 6 ccm) Kulturen der geimpften Anaëroben gewonnen (Tab. II).

Eine weitere Frage, die ich mir stellte, war, ob außer der Menge der Bouillon und der Kartoffel nicht auch die Höhe der Bouillonschicht, somit die Größe der mit der Luft in unmittelbarer Berührung stehenden Bouillonoberfläche, für die Anaërobenzüchtung von Einfluß sei. Bei den Versuchen zur Lösung dieser Frage bediente ich mich nicht der üblichen bakteriologischen Reagenzgläser wie bei den vorigen Versuchen, sondern Reagenzgläser von gleicher Höhe, aber zum mindesten um die Hälfte engerem Lumen. Es zeigte sich nun — wie aus Tab. III ersichtlich — daß, wenn solche Röhren 1—6 ccm Bouillon und je 0,1 g Kartoffel enthielten, Anaëroben in denselben zuweilen schon wachsen konnten, konstant aber erst dann Kulturen gewonnen wurden, wenn die Röhren bei gleicher Bouillonmenge Kartoffelstücke von je 0,2 g enthielten. Zu be-

Tabelle II.

Nährboden	Höhe der Bouillon-schicht	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Ku wı gew n T
1) 1 ccm Bouillon mit 0,1 g von einer jungen Kartoffel	1,2 cm	B. oedematis maligni	0	
2) 2 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	1,5 „	„	0	
3) 3 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	1,7 „	„	0	
4) 4 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	2,3 „	„	0	
5) 5 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	3,4 „	„	0	
6) 6 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	3,6 „	„	0	
7) 1 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	1,1 „	„	0	
8) 2 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	1,5 „	„	0	
9) 3 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	2,2 „	„	0	
10) 4 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	2,5 „	„	0	
11) 5 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	3,1 „	„	0	
12) 6 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	4,0 „	„	0	
13) 1 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	1,0 „	„	+	
14) 2 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	1,6 „	„	+	
15) 3 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	2,3 „	„	0	
16) 4 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	2,8 „	„	0	
17) 5 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	4,0 „	„	0	
18) 6 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	3,8 „	„	+	

merken ist noch, daß die Aussaat der Anaëroben in die in Tab. I und II angeführten Nährböden unmittelbar nach der Sterilisierung und Abkühlung derselben geschah.

Tabelle III.

Nährboden	Höhe der Bouillon-schicht	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kult wur gewo na Ta
1) 1 ccm Bouillon mit 0,1 g von einer jungen Kartoffel	3,0 cm	B. oedematis maligni	0	
2) 2 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	3,4 „	„	0	
3) 3 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	4,6 „	„	0	
4) 4 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	7,5 „	„	+	2
5) 5 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	7,5 „	„	0	
6) 6 „ „ „ 0,1 „ „ „ „ „	8,3 „	„	0	
7) 1 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	1,7 „	„	+	1
8) 2 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	3,6 „	„	+	1
9) 3 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	4,0 „	„	+	1
10) 4 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	4,3 „	„	+	1
11) 5 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	7,7 „	„	+	1
12) 6 „ „ „ 0,2 „ „ „ „ „	7,1 „	„	+	2
13) 1 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	1,7 „	„	+	1
14) 2 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	3,4 „	„	+	1
15) 3 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	4,0 „	„	+	1
16) 4 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	6,0 „	„	+	1
17) 5 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	6,0 „	„	+	1
18) 6 „ „ „ 0,3 „ „ „ „ „	6,0 „	„	+	1

Endlich blieb noch zu entscheiden, ob alle Pflanzengewebe das Wachstum der Anaëroben in gewöhnlicher Bouillon in gleichem Maße begünstigen. Wie aus Tab. IV ersichtlich, sind nicht alle Pflanzengewebe dazu geeignet. Während z. B. ein Stück Rübe oder Kohlrabi

das Wachstum der Anaëroben in Bouillon unbedingt begünstigte, war dies bei Anwesenheit von Rettig-, Orangen- oder Apfelstücken nicht der Fall. Auch in die in Tab. IV angeführten Nährböden wurden die Anaëroben unmittelbar nach der Sterilisierung derselben samt den in ihnen enthaltenen pflanzlichen Gewebsstücken geimpft.

Tabelle IV.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) Ca. 10 ccm Bouillon mit 3,0 g von einer alten roten Rübe	B. oedematis maligni	+	2
2) " 10 " " " 3,0 " " " " " "	Rauschbrandbacillus	+	2
3) " 10 " " " 3,0 " " " " gelben "	B. oedematis maligni	+	1
4) " 10 " " " 3,0 " " " " " "	Rauschbrandbacillus	+	1
5) " 10 " " " 3,0 " " einem jungen Kohlrabi	B. oedematis maligni	+	1
6) " 10 " " " 3,0 " " " " "	Rauschbrandbacillus	+	1
7) " 10 " " " 3,0 " " einer jungen roten Rübe	B. oedematis maligni	+	4
8) " 10 " " " 3,0 " " " " " "	Rauschbrandbacillus	+	2
9) " 10 " " " 3,0 " " einem jungen Rettig	B. oedematis maligni	0	
10) " 10 " " " 3,0 " " " " "	Rauschbrandbacillus	0	
11) " 10 " " " 3,0 " " " alten Apfel	B. oedematis maligni	0	
12) " 10 " " " 3,0 " " " " "	Rauschbrandbacillus	0	
13) " 10 " " " 3,0 " " einer Orange	B. oedematis maligni	0	
14) " 10 " " " 3,0 " " " "	Rauschbrandbacillus	0	
15) " 10 " " " 3,0 " " " Orangenschale	B. oedematis maligni	0	
16) " 10 " " " 3,0 " " " "	Rauschbrandbacillus	+	2

Fast alle Bouillons blieben nach der Sterilisierung derselben samt den in ihnen enthaltenen pflanzlichen Gewebsstücken ganz klar. Erst nachdem die in dieselben ausgesäten Anaëroben zum Wachstum gelangt sind, trübten sie sich und bekamen einen üblen Geruch, wobei um die darin befindlichen pflanzlichen Gewebsstücke herum Gasbläschen sich bildeten. Die Untersuchung im hängenden Tropfen zeigte gewöhnlich eine große Zahl sich schnell bewegender Bacillen mit oder ohne Sporenbildung. In den mit Anilinfarben tingierten Präparaten fand ich in diesen Fällen stets eine große Menge Bacillen ohne Involutionsformen und daneben fast immer Sporen in verschiedener Zahl.

Aus den obigen Beobachtungen läßt sich schließen, daß in einem Reagenzglas, welches ein der Bouillonmenge entsprechend großes Kartoffelstück enthält, eine Anaërobenkultur (B. botulinus, Rauschbrandbacillus, B. oedematis maligni) stets gewonnen werden kann, wenn die Aussaat des Anaëroben unmittelbar nach der Sterilisierung der Bouillon samt dem Kartoffelstück stattgefunden hat. Die Ursache, daß Tarozzi in Bouillon mit pflanzlichen Gewebsstücken nicht konstant Anaërobenkulturen erhielt, glaube ich in dem Umstand suchen zu müssen, daß er das Verhältnis der Bouillonmenge zu der in ihr enthaltenen Menge des Pflanzengewebes nicht beachtete, sowie darin, daß er vor der Aussaat der Anaëroben nicht sterilisierte pflanzliche Gewebsstücke in die Bouillon legte.

III. Untersuchungen über das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise in Bouillon, welche samt dem in ihr enthaltenen tierischen Gewebsstück bei 120° C durch 15 Minuten sterilisiert wurde.

Wie schon oben erwähnt, behauptet Tarozzi, daß, wenn in eine Bouillon ein frisches tierisches Gewebsstück gelegt und dann die Bouillon bis zum Siedepunkt mindestens für 5 Minuten erwärmt wird, in solcher Bouillon keine Anaërobenkultur gewonnen werden kann. Da ich nun aber gefunden habe, daß die Sterilisierung eines pflanzlichen Gewebsstückes samt der Bouillon, in der sie sich befanden, letztere als Kulturmittel für Anaëroben nicht beeinträchtigt, ja sogar das Wachstum der nach der Sterilisierung gesäten Anaëroben zu begünstigen scheint, ging ich daran, zu versuchen, ob es auch gelänge, in einer Bouillon, die samt einem in ihr enthaltenen tierischen Gewebsstück sterilisiert worden ist, Anaërobenkulturen zu gewinnen. Es zeigte sich, wie aus Tab. V und VI ersichtlich, daß in einer Bouillon, welche samt dem in ihr befindlichen tierischen Gewebsstück vor der Aussaat der Anaëroben im Autoklaven bei 120° C sterilisiert worden ist, eine Kultur dieser Anaëroben stets gewonnen wird, wenn nur das Verhältnis der Gewebsmenge zur Bouillonmenge nicht allzu klein ist (siehe Tab. V No. 14). Ferner fand ich, in Uebereinstimmung mit den Behauptungen Tarozzis, daß nicht alle Tiergewebe zu diesem Zwecke in gleichem Maße geeignet sind. So trübten sich z. B. die Bouillons, welche Muskelstücke von einem Kaninchenschenkel oder Stücke von einem Kaninchenhirn enthielten (siehe Tab. VI No. 15—20 und No. 23—28), nur in der unteren Schicht, während diejenigen, welche Nieren-, Leber- oder Milzstücke enthielten, sich gleichmäßig trübten. Die in den Bouillonröhren mit tierischen Gewebsstücken erhaltenen Anaërobenkulturen unterschieden sich durch gar nichts von denjenigen, die in Bouillonröhren mit pflanz-

Tabelle V.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) 1 ccm Bouillon mit 0,25 g Mäuseleber	B. oedematis maligni	+	4
2) 1 „ „ „ 0,5 „ „	„	+	2
3) 2 „ „ „ 0,5 „ „	„	+	1
4) 2 „ „ „ 1,0 „ „	„	+	1
5) 1 „ „ „ 0,35 „ Mäusemilz (ganze Milz)	„	+	2
6) 1 „ „ „ 0,1 „ „ („ „)	„	+	3
7) 1 „ „ „ 0,2 „ Mäuseniere (ganze Niere)	„	+	3
8) 2 „ „ „ 0,2 „ „ („ „)	„	+	1
9) 3 „ „ „ 0,2 „ „ („ „)	„	+	2
10) 3 „ „ „ 0,2 „ „ („ „)	„	+	2
11) 1 „ „ „ 0,9 „ Mäuseschenkel (Muskeln u. Knochen)	„	+	3
12) 10 „ „ „ 0,9 „ „ („ „ „)	„	+	3
13) 1 „ „ „ 0,25 „ Mäuselunge	„	+	2
14) 10 „ „ „ 0,25 „ „	„	0	
15) 2 „ „ „ 0,2 „ Mäusehirn	„	+	3
16) 2 „ „ „ 0,2 „ „	„	+	3
17) 1 „ „ „ 0,15 „ Mäuseherz	„	+	2
18) 2 „ „ „ 0,15 „ „	„	+	2

Tabelle VI.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Wieviel Tage nach der Sterilisierung des Nährbodens geimpft wurde	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) 1 ccm Bouillon mit 1,0 g Kaninchenleber	B. oedematis maligni	0	+	1
2) 2 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	0	+	1
3) 3 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	0	+	1
4) 4 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	0	+	1
5) 5 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	0	+	1
6) 6 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	0	+	1
7) 6 „ „ „ 1,0 „ Kaninchenniere	„ „ „	0	+	1
8) 6 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	0	+	1
9) 1 „ „ „ 1,0 „ „	B. botulinus	1	+	2
10) 2 „ „ „ 1,0 „ „	„ „	1	+	1
11) 3 „ „ „ 1,0 „ „	„ „	1	+	2
12) 4 „ „ „ 1,0 „ „	„ „	1	+	2
13) 5 „ „ „ 1,0 „ „	„ „	1	+	2
14) 6 „ „ „ 1,0 „ „	B. oedematis maligni	1	+	2
15) 1 „ „ „ 1,0 „ Kaninchenmuskel	„ „ „	1	+	2
16) 2 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	1	+	2
17) 3 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	1	+	2
18) 4 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	1	+	2
19) 5 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	1	+	2
20) 6 „ „ „ 0,85 „ „	B. botulinus	1	+	2
21) 5 „ „ „ 0,85 „ Kaninchenmilz	B. oedematis maligni	1	+	2
22) 5 „ „ „ 1,0 „ „	B. botulinus	1	+	2
23) 4 „ „ „ 1,0 „ Kaninchenhirn	B. oedematis maligni	1	+	2
24) 1 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	2	+	3
25) 2 „ „ „ 1,0 „ „	„ „ „	2	+	3
26) 3 „ „ „ 1,0 „ „	B. botulinus	2	+	2
27) 5 „ „ „ 1,0 „ „	„ „	2	+	2
28) 6 „ „ „ 1,0 „ „	Rauschbrandbacillus	2	+	4

lichen Gewebsstücken auswuchsen. Die in den Bouillonröhren mit tierischen Gewebsstücken gezüchteten Bacillen zeichneten sich durch schnelle Bewegungen aus, zeigten keine Involutionsformen und bildeten fast immer Sporen, wenn auch in dieser Hinsicht wenige Ausnahmen vorkamen.

Somit ist die Tarozzische Methode zur Züchtung der Anaëroben in aërober Weise durch die obigen Untersuchungen vereinfacht worden. Es braucht nämlich nicht unbedingt ein frisches, aseptisch ausgeschnittenes Tier- oder Pflanzengewebe in die Bouillon hineingebracht zu werden; man muß nicht erst einen oder 2 Tage abwarten, um sich zu überzeugen, ob das in die Bouillon gelegte Gewebsstück wirklich steril war; es genügt, nachdem ein tierisches oder pflanzliches Gewebsstück in die Bouillon gelegt worden ist, das Ganze zu sterilisieren, und in das derart zubereitete Kulturmittel Anaëroben zu impfen.

IV. Bemerkungen über die in den Tier- und Pflanzengeweben enthaltene Substanz, welche das Wachstum der Anaëroben begünstigt.

Die frischen Tiergewebe, besonders die parenchymatösen, enthalten eine gewisse Substanz oder gewisse Substanzen, welche leicht in das umgebende flüssige Mittel diffundiert. Tarozzi hat nämlich — wie oben erwähnt — nachgewiesen, daß man Anaërobenkulturen auch in

Tabelle VII.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Wie lange in der zu impfenden Bouillon ein Kartoffelstück gelegen hatte	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen	Anmerkungen
1) Ca. 10 ccm Bouillon — 3,0 g von einer Kartoffel	Rauschbrandbacillus	48 Stunden	0		
2) „ 10 „ „ — 3,0 „ „ „ „	„	48 „	0		Nach der Entfernung der Kartoffelstücke und vor der Aussaat der Anaëroben wurde die Bouillon tüchtig mit Luft geschüttelt
3) „ 10 „ „ — 1,0 „ „ „ „	B. oedematis maligni	20 „	0		
4) „ 10 „ „ — 1,0 „ „ „ „	„ „ „	20 „	+	2	
5) „ 10 „ „ — 3,5 „ „ „ „	„ „ „	8 Tage	0		
6) „ 10 „ „ — 3,5 „ „ „ „	„ „ „	8 „	0		
7) 5 „ „ — 2,0 „ „ „ „	„ „ „		+	1	Aus den Bouillons 7 und 8 wurden nach der Sterilisierung die Kartoffelstücke in die Bouillons 9 und 10 übergetragen und sodann in alle Anaëroben geimpft
8) 5 „ „ — 2,0 „ „ „ „	„ „ „		+	1	
9) 5 „ „ + 2,0 „ „ „ „	„ „ „		+	2	
10) 5 „ „ + 2,0 „ „ „ „	„ „ „		+	2	
11) 5 „ „ — 2,0 „ „ „ „	„ „ „	26 Stunden	+	1	Aus Bouillon 11 wurde das Kartoffelstück in Bouillon 12 übergetragen
12) 5 „ „ + 2,0 „ „ „ „	„ „ „		+	2	
13) 5 „ „ — 2,0 „ „ „ „	B. botulinus	26 „	+	1	Aus Bouillon 13 wurde das Kartoffelstück in Bouillon 14 übergetragen. In Bouillon 13 blieb ein wenig Kartoffelbrei zurück
14) 5 „ „ + 2,0 „ „ „ „	„ „		+	2	
15) 5 „ „ — 2,0 „ „ „ „	Rauschbrandbacillus		+	3	Aus den Bouillons 15 und 16 wurden die Kartoffelstücke gleich nach der Sterilisierung in die Bouillons 17 und 18 und aus diesen nach 24 Stunden in die Bouillons 19 und 20 übergetragen
16) 5 „ „ — 2,0 „ „ „ „	B. oedematis maligni		+	2	
17) 5 „ „ — 2,0 „ „ „ „	„ „ „	24 „	0		
18) 5 „ „ — 2,0 „ „ „ „	B. botulinus	24 „	+	1	
19) 5 „ „ + 2,0 „ „ „ „	B. oedematis maligni		+	3	
20) 5 „ „ + 2,0 „ „ „ „	B. botulinus		+	4	

solcher Bouillon gewinnen kann, in welcher ein tierisches Gewebsstück gelegen hatte und vor der Impfung der Anaëroben aus der Bouillon entfernt worden ist.

Nun fragt es sich, ob auch aus dem Pflanzengewebe die betreffende Substanz in das umgebende flüssige Mittel diffundiert. Tab. VII zeigt, daß dies wirklich der Fall ist, denn es wurden Anaërobenkulturen auch in solcher Bouillon gewonnen, aus welcher vor der Impfung der Anaëroben das Kartoffelstück entfernt worden war. Doch bildeten die in solcher Bouillon gezüchteten Anaëroben, soweit ich beobachten konnte, keine Sporen.

Ferner mußte die Frage entschieden werden, ob nur ein in der Bouillon enthaltenes Kartoffelstück das Wachstum der Anaëroben begünstige oder aber die in das umgebende flüssige Mittel diffundierende Substanz allein schon als Kulturmittel für Anaëroben dienen könnte, mit anderen Worten: ob wir auch Kulturen erhalten würden, wenn wir die Anaëroben anstatt in Bouillon in Wasser impften, in welchem gleichfalls ein Kartoffelstück sich befände. Zu diesem Zwecke legte ich in ein einige Kubikcentimeter destilliertes Wasser enthaltendes Reagenzglas ein Kartoffelstück und sterilisierte das Ganze bei 120° C. In einigen Fällen benutzte ich statt des Wassers eine 1-proz. Traubenzuckerlösung. Nachdem das Wasser bezw. die Traubenzuckerlösung samt dem Kartoffelstück sterilisiert und abgekühlt worden, säte ich in diese Nährböden Anaëroben aus. Einige Versuche stellte ich so an, daß ich aus einem Reagensglas mit Wasser, welches samt dem in ihm enthaltenen Kartoffelstück sterilisiert worden ist, letzteres herausnahm und in ein anderes Probierglas übertrug, das bloß destilliertes Wasser enthielt, und sodann in beide Probiergläser Anaëroben impfte. Die Ergebnisse dieser Versuche veranschaulicht Tab. VIII.

Tabelle VIII.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen	Anmerkungen
Ca. 10 ccm Aqua destillata + 2,0 g von einer Kartoffel	B. botulinus	+	3	
„ 10 „ „ „ + 2,0 „ „ „ „	B. oed. malig.	+	4	
„ 10 „ „ „ + 2,0 „ „ „ „	Rauschbrandbac.	+	4	
„ 10 „ 1 % Zuckerlös. + 2,0 „ „ „ „	B. botulinus	+	3	
„ 10 „ 1 % „ + 2,0 „ „ „ „	B. oed. malig.	+	2	
„ 10 „ 1 % „ + 2,0 „ „ „ „	Rauschbrandbac.	+	2	
5 „ Aqua destillata — 2,0 „ „ „ „	B. oed. malig.	0		Aus den Bouillons 7, 8 u. 9 wurden gleich n. d. Sterilisierung die Kartoffelstücke in die Bouill. 10, 11 u. 12 übergetragen
5 „ „ „ — 2,0 „ „ „ „	Rauschbrandbac.	0		
5 „ „ „ — 2,0 „ „ „ „	B. botulinus	0		
5 „ „ „ + 2,0 „ „ „ „	B. oed. malig.	+	3	
5 „ „ „ + 2,0 „ „ „ „	Rauschbrandbac.	+	4	
5 „ „ „ + 2,0 „ „ „ „	B. botulinus	0		
5 „ „ „ + 2,0 „ „ „ „	„ „	0		
5 „ „ „ + 2,0 „ „ „ „	„ „	+	5	

Es zeigte sich, daß in destilliertem Wasser, welches samt einem Kartoffelstück sterilisiert worden ist, Anaërobenkulturen zwar auswachsen können, jedoch nicht so konstant wie in Bouillon mit einem Kartoffelstück.

Im Wasser mit einem Kartoffelstück gelangten die Kulturen viel später zum Wachstum und waren auch viel weniger üppig als in Bouillon mit einem Kartoffelstück; das Wasser mit einem Kartoffelstück trübte sich nach der Aussaat der Anaëroben niemals deutlich, obgleich man sowohl im hängenden Tropfen, wie auch in gefärbten Präparaten 24 Stunden nach der Impfung in jedem Gesichtsfelde sehr zahlreiche Bacillen sehen konnte, während unmittelbar nach der Impfung auf einige, ja mehrere Gesichtsfelder ein Bacillus fiel. Die im Wasser mit Kartoffelstücken ausgewachsenen Anaëroben bildeten zuweilen Involutionsformen, dagegen konnte ich bei denselben niemals Sporenbildung beobachten.

Aus den obigen Beobachtungen geht hervor, daß die Substanz, welche das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise bedingt, sowohl in den Tier- wie Pflanzengeweben sich befindet, und daß diese Substanz in das flüssige Medium, in welchem ein Gewebstück eingetaucht ist, leicht diffundiert.

Der Umstand, daß das Wachstum der Anaëroben in gewöhnlicher Bouillon am meisten von zellreichen Tiergeweben begünstigt wird, läßt annehmen, daß diese Substanz eben von den Zellen herrührt. Und wenn nun die besagte Substanz wirklich in den Zellen sich befindet — wie dies auch Tarozzi annimmt — so wäre auch zu erwarten, daß dieselbe auch im Vogelei, das ja eigentlich eine riesengroße Zelle darstellt, sich vorfinden werde.

Um Aufschluß darüber zu gewinnen, legte ich in mehrere Bouillonröhren Stücke von gekochtem Hühnerei, und zwar Eiweiß- oder Eigelbstücke, sterilisierte die Bouillon samt den in ihr befindlichen Eistücken und impfte sodann in die so zubereiteten Nährböden Anaëroben.

Wie Tab. IX zeigt, wuchsen die in solche Nährböden gesäeten Anaëroben aus, wobei die Bouillon sich deutlich trübte.

Tabelle IX.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) Ca. 10 ccm Bouillon 3,0 g Hühnereigelb	B. oedematis maligni	+	1
2) „ 10 „ „ 3,0 „ „	Rauschbrandbacillus	+	2
3) „ 10 „ „ 3,0 „ Hühnereiweiß	B. oedematis maligni	+	2
4) „ 10 „ „ 3,0 „ „	Rauschbrandbacillus	+	1
5) „ 10 „ „ 3,0 „ „	B. oedematis maligni	+	1
6) „ 10 „ „ 3,0 „ „	Rauschbrandbacillus	+	1

Eine weitere Frage, die ich mir stellte, war, ob die das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise begünstigende Substanz sich nur in frischen, oder auch in nicht ganz frischen Geweben vorfindet. Tarozzi betont mit Nachdruck, daß in die zur Züchtung von Anaëroben bestimmten Nährböden ganz frische, von vollkommen gesunden Tieren herrührende Gewebsstücke gelegt werden müssen. Diese Bedingung ist meines Erachtens nicht genügend begründet, wie dies aus Tab. X folgt. Die in dieser Tabelle angeführten Nährböden sind auf folgende Weise zubereitet worden: In einige Röhren, welche je 5 ccm Bouillon enthielten, legte ich je ein Stück Kaninchenleber, und zwar in zwei Röhren Stücke, die 26 Stunden bei Zimmertemperatur lagen, in die übrigen solche, die zwei Tage gleichfalls bei Zimmertemperatur aufbewahrt

Tabelle X.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen	Anmerkungen
1) 5 ccm Bouillon mit 1,0 g Kaninchenleber	B. botulinus	+	2	
2) 5 „ „ 1,0 „ „	B. oedematis maligni	+	2	
3) 5 „ „ 1,0 „ „	„ „ „	+	2	
4) 5 „ „ 1,0 „ „	Rauschbrandbacill.	+	3	Die Leber hatte schon vor der Sterilisierung einen üblen Geruch
5) 5 „ „ 1,0 „ „	B. botulinus	+	3	
6) 5 „ „ 1,0 „ „	B. oedematis maligni	+	3	
7) 5 „ „ 2,0 „ „	Rauschbrandbacill.	+	3	
8) 5 „ „ 2,0 „ „	B. botulinus	+	3	

wurden und bereits einen üblen Geruch hatten. Die Bouillons wurden samt den in ihnen enthaltenen Leberstücken sterilisiert und sodann wurden in dieselben Anaëroben ausgesäet. In allen diesen Nährböden wuchsen die geimpften Anaëroben aus. Folglich befindet sich die Substanz, die das Wachstum der Anaëroben in aërober Weise begünstigt, nicht nur in frischen, sondern auch in nichtfrischen, ja sogar zerfallenden Tiergeweben.

Die in Rede stehende Substanz verhält sich hoher Temperatur gegenüber resistent. Die oben angeführten Tabellen zeigen, daß die Anaëroben sich sehr gut entwickeln, wenn in der Bouillon sich ein hin-

Tabelle XI.

Nährboden	Geimpfte Mikrobenart	Wie viel Tage nach der Sterilisierung des Nährboden geimpft wurde	Resultat der Impfung	Kulturen wurden gewonnen nach Tagen
1) Ca. 10 ccm Bouill. m. 3,0 g junge Kartoffel	B. botulinus	7	+	1
2) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	„ „	7	+	1
3) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	„ „	9	+	4
4) „ 10 „ „ „ 3,0 „ alte Kartoffel	B. oedematis maligni	10	+	1
5) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	Rauschbrandbacill.	10	+	1
6) „ 10 „ „ „ 3,0 „ junge Kartoffel	B. oedematis maligni	10	+	1
7) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	Rauschbrandbacill.	10	+	1
8) „ 10 „ „ „ 3,0 „ alte Kartoffel	B. botulinus	13	+	2
9) „ 10 „ „ „ 3,0 „ junge Kartoffel	„ „	15	+	1
10) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	B. oedematis maligni	20	+	3
11) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	Rauschbrandbacill.	20	0	
12) „ 10 „ „ „ 3,0 „ alte Kartoffel	B. botulinus	20	0	
13) „ 10 „ „ „ 3,0 „ alte gelbe Rübe	B. oedematis maligni	20	0	
14) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „ „	B. botulinus	20	0	
15) „ 10 „ „ „ 3,0 „ alte rote Rübe	Rauschbrandbacill.	20	0	
16) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „ „	B. botulinus	20	0	
17) „ 10 „ „ „ 3,0 „ junge rote Rübe	Rauschbrandbacill.	20	0	
18) „ 10 „ „ „ 3,0 „ junge Kohlrabi	„	20	0	
19) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	B. oedematis maligni	20	0	
20) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	B. botulinus	20	0	
21) „ 10 „ „ „ 3,0 „ junge Rettig	Rauschbrandbacill.	20	0	
22) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „ „	B. botulinus	20	0	
23) „ 10 „ „ „ 3,0 „ Hühnereiweiß	B. oedematis maligni	20	+	2
24) „ 10 „ „ „ 3,0 „ „	B. botulinus	20	0	
25) „ 10 „ „ „ 3,0 „ alte Kartoffel	„ „	30	0	
26) „ 10 „ „ „ 3,0 „ junge Kohlrabi	B. oedematis maligni	30	0	
27) „ 10 „ „ „ 3,0 „ junge rote Rübe	Rauschbrandbacill.	30	0	

reichend großes Tier- oder Pflanzengewebsstück befindet, nachdem die Bouillon samt dem Gewebsstück eine Viertelstunde bei 120° C sterilisiert worden ist. Dagegen erfährt diese Substanz nach einer gewissen Zeit eine Veränderung. Hält man nämlich diese Substanz mehrere Tage unter Einwirkung von Luft und Licht und impft dann Anaëroben, so wachsen zum größten Teil keine Kulturen mehr aus, wie dies Tab. XI beweist. Zuweilen können aber auch solche Nährböden, sogar 20 Tage nach deren Sterilisierung, als Kulturmittel für Anaëroben dienen, wobei letztere sich ziemlich gut entwickeln und Sporen bilden können.

Die obengenannten Versuche sind mit dem B. botulinus, Bacillus oedematis maligni und Rauschbrandbacillus ausgeführt worden.

Die Prüfung der vereinfachten Tarozzischen Methode in Bezug auf andere Anaërobenarten ist weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Krakau, Juli 1906.

Literatur.

1) Tarrozzi, G., Sulla possibilità di coltivare facilmente allaria in cultura pura i germi anaerobici. (Estratto dagli Atti della R. Accademia dei Fisiocritici. Serie IV. Vol. XV. Siena 1905.)
2) — —, Ulteriori osservationi sulla cultura aerobica dei germi anaerobici. (Estratto dagli Atti della R. Accademia dei Fisiocritici. Serie IV. Vol. XVIII. Siena 1905.)
3) — —, Ueber ein leicht in anaërober Weise ausführbares Kulturmittel von einigen bis jetzt für strenge Anaëroben gehaltenen Keimen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Originale Bd. XXXVIII. 1905.)
4) Wrzosek, A., Ueber das Wachstum obligatorischer Anaëroben auf Kulturmitteln in aërober Weise. (Wiener klin. Wochenschr. 1905.)
5) Ori, A., Sulla cultura degli anaerobici. (Atti della R. Accademia dei Fisiocritici. Serie IV. Vol. XVII. Siena 1905.) Zit. nach Tarozzi v. Nr. 6.
6) Tarozzi, G., Osservationi sulla natura dei fenomeni che determinano la esigenza anaerobica nelle culture dei germi anaerobici. (Estratto dagli Atti della R. Accademia dei Fisiocritici. Serie IV. Vol. XVII. Siena 1905.)

Ueber das Pneumotoxin.

Von **Allan Macfadyen.**

Der Pneumococcus ist ein wichtiger Erreger verschiedener Krankheitsprozesse beim Menschen. Außerhalb seiner ätiologischen Rolle bei akuter Lobärpneumonie dringen die Pneumokokken auch in die Pleuralhöhle und in das Blut, erscheinen in den Körpersekreten und werden oft bei verschiedenen Entzündungen, z. B. bei Meningitis, Peritonitis, Pericarditis, Endocarditis, Otitis, Conjunctivitis etc. vorgefunden.

Die Virulenz des Pneumococcus ist eine variable. Die virulentesten Formen sind in akuten Entzündungsprozessen vorhanden, und diese Virulenz kann nach Passagen durch empfindliche Tiere konserviert und erhöht werden. In experimentellen Arbeiten über den Pneumococcus ist es wichtig, mit Kulturen von probierter Virulenz zu arbeiten.

Während die akuten Pneumokokkeninfektionen von Symptomen einer schweren Intoxikation begleitet sind, weiß man wenig Genaues über das spezifische Gift des Pneumococcus. Die Versuche, ein lösliches Gift aus Kulturen zu gewinnen, haben keine ermutigenden

Resultate geliefert. Die toxischen Eigenschaften filtrierter Kulturen sind gering und beträchtliche Mengen nötig, um eine Wirkung in Versuchstieren hervorzurufen. Die spezifische Natur solcher Gifte bleibt auch nicht ganz außer Frage.

G. und F. Klemperer (1) haben in ihren sorgfältigen Versuchen über den Pneumococcus verschiedenartige Methoden und Material benutzt. Die gewonnenen Gifte waren nicht von sehr bedeutender Kraft, da bis zu 24 ccm nötig waren, um tödliche Wirkungen beim Kaninchen hervorzubringen. Diese Beobachter hielten diese Gifte für spezifisch und benutzten sie, um ein antitoxisches Serum zu präparieren.

Die toxischen und antitoxischen Wirkungen waren aber schwach, und man mußte auch größere Mengen der filtrierten Kulturen benutzen, um eine aktive Immunisierung der Versuchstiere zu erzielen.

Foà und Scarbone und Scabia (2) haben analoge Versuche ausgeführt, ohne besonders nennenswerte Resultate erreicht zu haben.

Panes Versuche über ein lösliches Toxin waren fast negativ, so daß er der Wirkung eines Giftes bei Pneumonie wenig Bedeutung zugeschrieben hat.

Mennes (3) fand, unter Benutzung hochvirulenter Pneumokokkenstämme, ihre filtrierten Kulturen wenig giftig — es wirkten nur große Dosen von filtrierten und erhitzten Kulturen tödlich. Bouillonkulturen nach 20 Minuten langer Erhitzung bei 62° C erzeugten nach der Injektion Fieber, Gewichtsverlust und manchmal Diarrhöe — die Resultate waren aber unregelmäßig. Die behandelten Kaninchen zeigten sich in gewissen Fällen gegen tödliche Dosen des Pneumococcus resistent. Mennes immunisierte auch die Ziege und das Pferd mit Kulturen und mit Blut von infizierten Kaninchen. Im letzteren Fall schützte das Serum gegen die lebenden Pneumokokken und gegen das Bouillontoxin, welches Fieber und Gewichtsverlust verursachte. Mennes scheint nicht mit sicher tödlichen Dosen seines Toxins gearbeitet zu haben, und dies verringert den Wert seiner Resultate.

Isaeff (4) fand auch, daß sterilisierte Kulturen im allgemeinen eine schwache Toxizität zeigten, indem sie in Dosen äquivalent zu $3^1/_2$ Proz. des Körpergewichtes des Kaninchens nicht tödlich waren. Auf der anderen Seite lieferte das Blut von infizierten Kaninchen ein Filtrat, toxisch intravenös und manchmal tödlich bis zu 1 Proz. des Körpergewichtes, d. h. ungefähr 10 ccm pro Kilogramm. Eine Dosis von 10 ccm immunisierte Kaninchen gegen den Pneumococcus, aber nicht gegen das Toxin.

Sterilisierte Bouillon und Serumkulturen in Mengen von 10—15 ccm verursachten in den Versuchstieren Fieber und Abmagerung. Isaeff kam zu dem Schluß, daß „man nicht die Existenz einer antitoxischen Eigenschaft des Blutes von Tieren gegen den Pneumococcus vacciniert zugeben kann“. Die Toxine von Isaeff besaßen aber nicht die genügende Wirksamkeit, um diese Schlußfolgerung zu rechtfertigen.

Carnot und Fournier (5) beschreiben toxische Dialysate, welche sie von Pneumokokkenkulturen bekamen, und die sie in vacuo und durch Ausfällen mit Calciumphosphat konzentrierten.

Die Antipneumokokkensera von Pane, Washbourn und Römer (6) wurden durch Injektion verschiedener Pneumokokkenstämme bereitet und schützten gegen die virulenten Pneumokokken. Für diese Sera hat man keine antitoxischen Eigenschaften beansprucht.

Die Versuche, wirksame lösliche Toxine des Pneumococcus zu

gewinnen, sind nicht sehr erfolgreich gewesen, weder haben die beschriebenen Toxine als immunisierende Agentien viel Wert gezeigt, noch haben die Versuche überzeugende Beweise für die Existenz eines echten sezernierten Toxins geliefert.

Das wesentliche Pneumotoxin ist von endocellulärem Typus, und dieses Toxin muß deshalb hauptsächlich als der wichtigere Faktor in der möglichen Erzeugung irgend einer antitoxischen Immunität betrachtet werden.

Da wenig direkte Versuche in dieser wichtigen Richtung gemacht worden sind, so will ich die von mir schon erzielten Resultate kurz mitteilen.

Der Zweck der Versuche war erstens, aus den Pneumokokkenleibern ein Toxin zu bekommen, und zwar unter Benutzung der Gefrier-Zerkleinerungsmethode, die schon in Fällen des Typhus, der Cholera und anderen pathogenen Mikroorganismen mit Erfolg benutzt wurde, und die ich deshalb auch hier wieder angewandt habe (7).

Die dazu benutzten Pneumokokken wurden von Menschen isoliert und ihre Virulenz durch Kaninchenpassagen erhöht. Die Kulturen wurden unmittelbar von Kaninchen gemacht, die einer Pneumokokkenseptikämie erlegen waren. Das Herzblut wurde auf Nähragar in Roux-Flaschen aufgestrichen. Durch dieses Verfahren erhielt man ein gutes Wachstum der virulenten Pneumokokken, und nach 2—3 Tagen bei 37° C lieferten die Kulturen genügendes Material für jeden Versuch. Das Produkt wurde, nachdem die Pneumokokken zerrieben waren, in $^1/_{1000}$ Kalilauge aufgenommen, dann zentrifugiert und filtriert. Im Laufe dieser Versuche habe ich konstatiert, daß, wenn man darauf achtet, vollvirulente Pneumokokkenstämme zu gebrauchen, man regelmäßig akut toxische Filtrate ihrer Zellsäfte bekommt. Die Stämme, welche einen Verlust an Virulenz erlitten hatten, lieferten keine Zellsäfte von bemerkbarer Toxizität, z. B. 1 ccm intravenös und $^1/_5$ ccm intracerebral wirkten nicht auf Kaninchen, und $^1/_5$, $^1/_2$ und 1 ccm töteten intraperitoneal Mäuse und Meerschweinchen nicht. Dagegen waren die filtrierten Zellsäfte von vollvirulenten Stämmen akut toxisch in den erwähnten Dosen. Der Parallelismus zwischen Virulenz und Toxizität war unverkennbar und wird in den unten zitierten Versuchen weiter illustriert.

Unter Berücksichtigung dieser Tatsache war ich in der Lage, nicht nur toxische Zellsäfte des Pneumococcus zu bekommen, sondern auch die Toxizität durch weitere Erhöhung der Virulenz des Organismus zu vergrößern.

Die Toxizität wurde auf Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse probiert. Das Meerschweinchen hat sich als ein bequemes Versuchstier erwiesen. Die unten gegebenen Zahlen illustrieren die gewonnenen Resultate nach 3—8 Passagen des Pneumococcus durch Kaninchen.

A. Filtrierte Zellsäfte des Pneumococcus frisch von Kaninchen isoliert:

Kaninchen:	1 ccm	intravenös.	Akut Diarrhöe. Tod.
„	0,5 „	„	Lebt.
„	0,2 „	intracerebral.	Tod.
Meerschweinchen:	2 „	intraperitoneal.	„
„	1 „	„	„
„	0,5 „	„	„
Maus:	1 „	„	„
„	0,5 „	„	„
„	0,3 „	„	„

B. Filtrierte Zellsäfte des Pneumococcus nach Passage durch Kaninchen:

Kaninchen:	1 ccm	intravenös.	Tod.
„	0,5 „	„	Schwer krank.
Meerschweinchen:	1 „	intraperitoneal.	Tod.
„	0,5 „	„	„
„	0,3 „	„	„
„	0,1 „	„	„

C. Filtrierte Zellsäfte des Pneumococcus nach weiteren Passagen durch Kaninchen:

Meerschweinchen:	1 ccm	intraperitoneal.	Tod.
„	0,5 „	„	„
„	0,1 „	„	„
„	0,05 „	„	„

Die toxischen Wirkungen waren von akutem Charakter, da die Tiere nach 12—18 Stunden starben.

Die Haupt-post mortem-Erscheinung war eine mehr oder weniger akute Kongestion der Lungen.

Die obigen Zellsäfte enthielten ungefähr in jedem Kubikcentimeter 5 mg fester Substanz.

Diese Versuche werden genügen, um zu beweisen, daß es möglich ist, ein wirksames Toxin aus den Leibern von virulenten Pneumokokken zu extrahieren und gleichfalls ein Toxin von viel größerer Wirksamkeit als die von früheren Beobachtern beschriebenen löslichen Gifte, indem die ermittelte tödliche Dosis des Endotoxins $^1/_4$ mg fester Substanz betrug.

Das gewonnene Endotoxin des Pneumococcus ist gegen Hitze sensitiv. Ein filtrierter Saft während 1 Stunde auf 55° C erhitzt war nicht tödlich in Dosen von 0,5 und 1 ccm, während 2 ccm erst nach 5 Tagen tödlich waren. Der nicht erhitzte Saft war in Mengen von $^1/_{20}$ ccm tödlich.

Die verlängerte Wirkung von Chloroformdampf war auch für das Endotoxin schädlich. Nach 1-stündiger Wirkung von Chloroformdampf waren 0,5, 1 und 2 ccm der filtrierten Säfte nicht tödlich, während $^1/_{20}$ ccm des ursprünglichen Materials akut toxisch war.

Die immunisierenden Versuche mit dem gewonnenen Pneumotoxin sind jetzt im Gange, und die Resultate werden in einer weiteren Mitteilung gegeben.

London, Kings College.

Literatur.

1) Klemperer, G. u. F., Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 34 u. 35.
2) Foà u. Scarbone, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. X. p. 768. — Foà u. Scabia, Ibid. Bd. XI. p. 615.
3) Mennes, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXV. p. 413.
4) Isaeff, Annal. Pasteur. T. VII. p. 259.
5) Carnot et Fournier, Arch. méd. expér. 1900. p. 357.
6) Pane, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXI. p. 664. — Washbourn, Brit. med. Journ. 1897. p. 510. 1899. p. 1247. — Römer, Arch. f. Ophthalmol. Bd. LV. 1902.
7) Macfadyen, Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XLVI. Heft 2.

Einige vergleichende Untersuchungen über die Einwirkung der Säugetier- und der Geflügeltuberkelbacillen auf die Reaktion des Substrates in Bouillonkulturen.

Von **O. Bang**,
Assistenten an der kgl. tierärztlichen u. landwirtschaftlichen Hochschule in Kopenhagen.

Mit 2 Figuren und 2 Kurven.

Prof. Th. Smith[1]) hat im Laufe der letzten Jahre einige Untersuchungen über die Alkali- und Säurebildung der Säugetiertuberkelbacillen während ihres Wachstums auf Bouillon veröffentlicht. Smith machte hierbei die interessante Beobachtung, daß Bacillen des humanen Typus sich in dieser Beziehung von Bacillen des bovinen Typus verschieden verhielten, indem Rinderbacillen während ihres Wachstums Bouillon neutralisierten, die gegen Phenolphthaleïn sauer war, oder auch dieselbe schwach alkalisch machten, während mit Bacillen des Menschen besäte Bouillon sich anfangs dem neutralen Punkte näherte, dann aber wieder mehr sauer wurde. Smith wies nach, daß dieses letztere Verhalten durch die Anwesenheit von Glycerin im Nährboden bedingt ist, indem Bouillon ohne Glycerin, mit den genannten Bacillen besät, schlechtes Wachstum gibt und die Reaktion in allen Fällen annähernd oder ganz neutral oder aber schwach alkalisch wird. Das Vermögen der verschiedenen humanen Stämme, Säure zu bilden, ist indes sehr verschieden. Verschiedenheiten der Bouillon spielen wahrscheinlich eine große Rolle, weshalb Smith auch hervorhebt, man sollte jedesmal, wenn ein neuer Stamm geprüft werde, zugleich an bekannten Stämmen auf derselben Bouillon Kontrollversuche anstellen.

Im Anschluß an diese Untersuchungen glaubte ich, es könne von einigem Interesse sein, zu untersuchen, wie Geflügeltuberkelbacillen während ihres Wachstums in Glycerinbouillon auf die Reaktion derselben einwirken.

Schon Bouveault[2]) wies nach, daß Geflügeltuberkelbacillen während ihres Wachstums Glycerin in bedeutender Menge verbrauchen. Sie fordern ebenso wie die Säugetiertuberkelbacillen, daß die Bouillon Glycerin enthält. Fehlt letzteres, so gedeihen sie sehr schlecht.

Zu meinen Untersuchungen benutzte ich Behälter von zwei verschiedenen Typen, teils einige, die eine größere Menge Bouillon faßten, teils viereckige Kulturfläschchen, die nur 10 ccm Bouillon enthielten. Die größeren Behälter waren Kolben, die im bakteriologischen Laboratorium der Hochschule zur Züchtung von Tuberkelbacillen behufs der Tuberkulinfabrikation benutzt werden. Die Form der Kolben ist die in Fig. 1 gezeigte.

Im ganzen vermochten sie ca. 500 ccm zu fassen. Es wurden 200—250 ccm Bouillon in die Kolben gefüllt, die mit einem Gummipfropfen mit 2 Durchbohrungen versehen wurden; in der einen derselben bringt man eine Glasröhre mit Wattepfropfen, in der anderen

1) Trans. Assoc. Amer. Phys. 1903. — Amer. Journ. of the Med. sciences. 1904. Aug. — Journ. of Med. Research. Vol. XIII. 1905. No. 4.

2) Bouveault, L., Études chimiques de la bacille de la tuberculose aviaire. [Thèse pour le doctorat en médecine.] Paris 1892.

einen aus einer gebogenen dickwandigen Glasröhre verfertigten Heber an. Letztere Röhre wurde mittels eines dickwandigen Gummischlauches mit einer dünnen Glasröhre in Verbindung gesetzt, die am einen Ende in ein Kapillarröhrchen ausgezogen war, welches nach Füllung des Hebers mit Flüssigkeit zugeschmolzen wurde. Das Kapillarröhrchen wird durch eine Glasröhre *d* beschützt, die von unten über den unteren Teil des Gummischlauches geschoben wird.

Man kann während des Wachstums leicht Proben der Bouillon entnehmen, ohne daß die Kolben infiziert werden. Man bringt eine Klemme am Gummischlauche an, wenn man die Kapillarröhre zu durchschneiden wünscht, wie auch wenn sie wieder zugeschmolzen werden soll.

Angestellte Versuche erwiesen als ferneren Vorteil beim Gebrauch der Kolben eine so unbedeutende Verdampfung, daß man behaupten kann, man habe fortwährend mit derselben Konzentration der Flüssigkeit gearbeitet[1]).

c

d

Fig. 1.

Zur Züchtung in dünnen Schichten von Flüssigkeit benutzte ich gewöhnliche viereckige Kulturfläschchen, die ich auf die eine Seite legte und mit einer rechtwinkelig gebogenen Glasröhre mit Wattepfropfen verschloß, um welche Röhre ein Stück Gummischlauch angebracht war, das dicht an den Hals des Fläschchens anschloß (Fig. 2). Die Fläschchen waren 8 cm hoch, 5 cm breit und 3 cm weit. Die Stärke der Schicht der Flüssigkeit wurde mithin $2^1/_2$ mm. In diesen Fläschchen entstand fast immer üppiges Wachstum. Die große Menge der an der Oberfläche wachsenden Bacillen brachte, wie zu erwarten war, auf der geringen Bouillonmasse einen erheblichen Ausschlag in betreff der Alkali- und Säurebildung hervor. Die Verdampfung wirkt hier auch nicht störend; Kulturfläschchen, die 5 Monate lang im Thermostaten gestanden, hatten während dieser Zeit nur zwischen 2 und $2^1/_2$ g an Gewicht verloren. Ferner nehmen die viereckigen Fläschchen nur wenig Raum ein, da sie sich übereinander aufschichten lassen.

Fig. 2.

Jedes Fläschchen kann nur einmal zum Titrieren verwendet werden, aber eine größere Anzahl Fläschchen, mit demselben Bacillus besät und in angemessenen Zwischenräumen titriert, indem man zum jedesmaligen

1) Kolben, die 5 Monate lang im Thermostaten standen, verloren während dieser Zeit bei einem Inhalt von 250 ccm Bouillon nur 5 g an Gewicht.

Titrieren 1 oder 2 Fläschchen verwendet, werden meines Erachtens die schnellsten und zuverlässigsten Aufschlüsse über das Verhalten eines Tuberkulosestammes mit Bezug auf dessen Reaktionskurve geben; selbstverständlich wird das Wachstum in den verschiedenen Fläschchen nie ganz dasselbe sein, benutzt man aber eine größere Anzahl, so wird dies ohne Belang sein.

Die angewandte Bouillon wurde dargestellt, wie Smith es angibt: $^1/_2$ kg Kalbfleisch zu 1 l Wasser, 1 Proz. Wittes Pepton, 0,5 Proz. NaCl, 3 Proz. Glycerin. Die Bouillon wurde mit Phenolphthaleïn als Indikator und $^1/_{20}$ normalen Natrons titriert, indem gewöhnlich 10 ccm zum Titrieren gebraucht wurden. Anfangs verdünnte ich die Bouillon mit dem zehnfachen Volumen siedenden destillierten Wassers, später nur mit dem doppelten Volumen, und ich titrierte in die Kulturfläschchen. Weit größere Bedeutung als das Verfahren hat für die Genauigkeit des Titrierens sicherlich die Beschaffenheit der Bouillon, indem eine Bouillon weit schwieriger zu titrieren sein kann als eine andere, was nicht immer damit zusammentrifft, daß die Bouillon stärkere oder schwächere Färbung hat.

Zu den Untersuchungen benutzte ich 12 Geflügeltuberkulosestämme, die ich mit 4 humanen Stämmen und 1 bovinen Stamme verglich[1]).

Tub. I des Menschen ist der Stamm, der seit mehreren Jahren zur Darstellung des Tuberkulins verwertet wird. Tub. III des Menschen wurde vor $1^1/_2$ Jahren aus einem Lupusfalle angelegt. Tub. IV des Menschen wurde vor ca. $^1/_2$ Jahre aus einem Lungentuberkulosefalle angelegt.

Die Geflügeltuberkulosestämme sind sämtlich direkt auf Glycerinkartoffel oder Glycerinserum aus Vögeln angelegt, die zur Untersuchung eingesandt waren. Die 12 Stämme rühren von 11 verschiedenen Beständen aus weit voneinander entfernten Orten des Landes her; 11 wurden aus Hühnern, 1 aus einer Taube angelegt.

Ursprünglich wünschte ich nur solche Stämme, die oberflächliches Wachstum haben, der Untersuchung zu unterwerfen; da aber nur 3 (I, II, VI) der mir zur Verfügung stehenden Stämme rasch an die Oberfläche emporwuchsen, und da es sich erwies, daß es leicht mehrere Monate dauern konnte, bis die anderen hierzu im stande wurden[2]), säte ich die Kulturen auf die Versuchskolben aus, je nachdem es gelang, sie auf Bouillon zum Wachsen zu bringen, auf welche Weise sie nun auch wachsen mochten. Aus den meisten Stämmen floß doch ein Körnchen Kultur auf der Oberfläche der Bouillon, dieses sank aber meistens beim Umsäen in die Versuchskolben oder auch dauerte es mehrere Monate, bis es sich in erheblichem Maße zu vermehren begann.

Bei allen meinen Versuchen wandte ich Bouillon derselben Zusammensetzung an, die jedoch zu verschiedenen Zeiten zubereitet wurde.

Das Resultat dieser Reihe von Untersuchungen war, daß sämtliche untersuchte Geflügeltuberkulosestämme während ihres Wachstums etwas Alkali produzierten, indem sie das Substrat weniger sauer machten; nur diejenigen Stämme, die an der Oberfläche wachsen, machten die Bouillon alkalisch.

---

1) Den Rinderstamm und den einen humanen Stamm, Tub. II des Menschen, überließ mir Prof. Jensen, wofür ich ihm meinen ergebenen Dank ausspreche.

2) Es scheint nämlich, daß alle Geflügeltuberkulosestämme sich nach hinlänglich andauernder Züchtung auf Bouillon dahin bringen lassen, an der Oberfläche zu wachsen, wie man auch sieht, daß Stämme, die am Boden wachsen, viele Monate nach dem Aussäen plötzlich an der Oberfläche wachsen können.

In Kulturfläschchen wurden nur Kulturen mit oberflächlichem Wachstum angewandt; das Verhalten war hier dasselbe wie bei den Kolben, in denen oberflächliches Wachstum stattfand, nur wurde das Resultat weit geschwinder erreicht. Einzelne der Stämme wuchsen äußerst rasch in den Kulturfläschchen. Der Stamm I bedeckte im Laufe von 7 Tagen die ganze Oberfläche und hatte während dieser Zeit das Substrat stark alkalisch gemacht.

Die humanen Stämme zeigten sämtlich das von Smith beschriebene Verhalten, indem die Bouillon während ihres Wachstums anfangs weniger sauer, darauf aber stärker sauer wurde; doch erwies Tub. I des Menschen, der sonst immer als ein stark säurebildender typischer humaner Stamm auftrat, auf eine Bouillon in 2 Versuchskolben gesät, ein ganz sonderbares Verhalten, indem seine Kurve an die der Rinderstämme oder noch mehr an die eines von Smith[1]) beschriebenen atypischen humanen Stammes erinnerte.

Die erschienenen Zahlen waren folgende:

		Gesät	Reaktion (+alkalisch, —sauer) nach
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95	Tub. I des Menschen	19. 11. 05	a) 41 T. —0,85, 58 T. —1,2, 76 T. —1,1, 88 T. —0,6, 103 T. —0,8, 117 T. —0,3, 145 T. 0.
			b) 58 T. —1,35, 76 T. —1,15, 88 T. —0,95, 103 T. —0,85, 117 T. —0,4, 145 T. —0,4, 179 T. —0,3, 224 T. —0,05, 258 T. +0,1.

Dieses Verhalten zeigt, daß Smith völlig recht hat, wenn er davor warnt, einen Tuberkulosestamm nach einer einzelnen Probe auf einer einzigen Bouillon zu klassifizieren, namentlich wenn man keinen bekannten Stamm zur Kontrolle verwerten kann.

Auch die Reaktionskurve des Rinderstammes war so, wie Prof. Smith sie beschreibt.

Die Zahlen, die ich beim Titrieren aus den Versuchskolben fand, sind folgende[2]):

		Gesät	Reaktion (+alkalisch, —sauer) nach
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Oberflächl. Wachstum	Hühnertub. I	19. 11. 05	41 T. —1,75, 58 T. —1,45, 75 T. —0,85, 88 T. —1,0, 103 T. —1,1, 117 T. —0,4, 145 T. +0,05, 178 T. +0,5, 223 T. +0,35, 241 T. +0,55.
	Hühnertub. I	19, 11. 05	58 T. —1,4, 88 T. —0,75, 216 T. +0,65.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Oberflächl. Wachstum	Hühnertub. II	18. 12. 05	46 T. —1,7, 59 T. —1,05, 74 T. —1,3, 88 T. —0,8, 116 T. +0,05, 149 T. +0,35, 174 T. +0,1, 181 T. +0,5, 212 T. +0,4.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Oberflächl. Wachstum nach 199 Tagen	Hühnertub. III	18. 12. 05	47 T. —1,7, 59 T. —1,7, 74 T. —1,15, 88 T. —1,2, 116 T. —0,4, 149 T. —0,95, 199 T. —0,7, 212 T. +0,05.

1) Journ. of Med. Research. Vol. XIII. 1905. No. 4.

2) Es wird bemerkt, daß das Titrieren derjenigen Kolben, in welchen die Tuberkelbacillen gleich nach dem Aussäen oberflächliches Wachstum hatten, niemals vor dem Zeitpunkte begann, wo das Häutchen fast die Oberfläche überzogen hatte.

		Gesät	Reaktion (+alkalisch, —sauer) nach
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Oberflächl. Wachstum	Hühnertub. VI	18. 12. 05	47 T. —0,65[1]), 59 T. —0,7, 74 T. —0,8, 88 T. -0,3, 116 T. +0,2, 175 T. +0,3, 212 T. +0,35.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Wächst nur am Boden	Hühnertub. IV	9. 1. 06	38 T. —1,7, 52 T. —1,35, 66 T. —1,2, 95 T. —0,85, 153 T. —0,85, 190 T. —0,6.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Wächst nur am Boden	Hühnertub. VII	9. 1. 06	37 T. —1,7, 52 T. —1.55, 66 T. —1,3, 95 T. —0,25, 153 T. —0,35, 190 T. —0,3.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Wächst nur am Boden	Hühnertub. IX	9. 1. 06	38 T. —1,4, 52 T. —1,65, 66 T. —1,4, 95 T. —0,6, 153 T. —0,55, 190 T. —0,55.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Wächst nur am Boden	Hühnertub. X	9. 1. 06	52 T. —1,45, 66 T. —0,6, 95 T. —0,6, 153 T. —0,55, 217 T. —0,7.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Oberflächl. Wachstum	Hühnertub. XI	9. 1. 06	175 T. +0,4, 190 T. +0,3.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95 Oberflächl. Wachstum	Taubentub. V	9. 1. 06	158 T. +0,4, 175 T. +04, 190 T. +0,55.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95	Tub. II des Menschen	12. 1. 06	35 T. —0,9, 50 T. —0,9, 64 T. —0,85, 91 T. —0,45, 124 T. —1,3, 169 T. —1,65, 204 T. —1,3.
Bouillonmenge 250 ccm Reaktion —1,95	Rinderstamm	12. 1. 06	50 T. —0,8, 64 T. —0,55, 91 T. +0,1, 124 T. +0,05, 169 T. +0,05, 204 T. +0,05.
Bouillonmenge 200 ccm Reaktion —0,85	Tub. I des Menschen	7. 2. 06	38 T. —0,65, 65 T. —0,8, 98 T. —1,8, 143 T. —2,25, 178 T. —2,25.

Die Zahlen für die Kulturfläschchen waren folgende:

		Gesät	Reaktion (+alkalisch, —sauer) nach
Bouillonmenge 10 ccm Reaktion —1,85	Hühnertub. III	7. 2. 06	42 T. —0.4 —0,5, 53 T. +0,36 +0,72, 64 T. +0,71, 73 T. +0,5 +0,5, 82 T. +0,55, 96 T. +0,3, 131 T. +0,36.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,85	Tub. I des Menschen	7. 2. 06	38 T. —3,2 —3,35[2]), 53 T. —3,15 —4,1, 64 T. —4,6 —3,95, 73 T. —3,9, 82 T. —4.0, 96 T. —3,75, 131 T. —3,8, 160 T. —3,2.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —0,85	Tub. I des Menschen	12. 2. 06	37 T. —1,85 —2,7, 50 T. —3,05, 59 T. —3,05, 68 T. —2,55, 91 T. —3,0, 126 T. —3,1, 155 T. —3,0.
Bouillonmenge 10 ccm Reaktion —1,7	Hühnertub. I	25. 3. 06	7 T. +0,45 +0,95, 12 T. +0,95, 17 T. +0,5 +0,8, 27 T. +0,5 +0,45, 36 T. +0,55 +0,7, 50 T. +0,7, 85 T. +0,55, 114 T. +0,55.

1) Da der Schlauch zu dünn war, hatte er bei *c* (s. Fig. 1) einen Riß bekommen, und ein bedeutender Teil der Bouillon war längs des Schlauches ausgesickert und hier verdampft.

2) Daß in diesem und dem folgenden Falle keine Verminderung des Säuregehaltes beobachtet wurde, beruht darauf, daß das Titrieren nicht früh genug, d. h. nicht binnen Verlaufes einer Woche begann.

		Gesät	Reaktion (+alkalisch, —sauer) nach
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,7	Hühnertub. II	25. 3. 06	12 T. +0,6, 18 T. +0,5, 27 T. +0,5, 36 T. +0,2, 50 T. +0,5, 68 T. +0,1, 97 T. +0,45, 114 T. +0,6.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,7	Taubentub. V	25. 3. 06	9 T. —0,4, 12 T. —0,45, 18 T. +0,7, 27 T. +0,7, 36 T. +0,45 +0,55, 50 T. +0,7, 85 T. +0,65, 114 T. +0,55.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,7	Tub. I des Menschen	25. 3. 06	7 T. — 1,0 —0,5, 9 T. +0,5, 17 T. —2,75 —1,3 —0,65 [1]) —0,25 [1]), 27 T. —2,9 —2,9, 36 T. —3,1 —3,4, 50 T. —3,5, 85 T. —4,0, 114 T. —3,5.
Dieselbe Bouillon Bouillonmenge 50 ccm [2]) Reaktion —1,7	Tub. I des Menschen	25. 3. 06	18 T. —0,6, 54 T. —3,05, 92 T. —3,7.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,7	Hühnertub. VI	27. 3. 06	7 T +0,05, 10 T. +0,85, 16 T. +0,7 +1,1, 25 T. +0,35, 34 T. +0,35 +0,55, 48 T. +1,05, 83 T. +0,65.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,7	Rindertub.	31. 3. 06	12 T. —1,0, 21 T. —0,4, 30 T. —0,2 —0,2, 44 T. —0,1, 84 T. —0,2, 86 T. +0,05.
Bouillonmenge 10 ccm Reaktion —1,6	Tub. I des Menschen	9. 5. 06	9 T. +0,1 +0,2, 12 T. +0,05 —0,3, 21 T. —2,95, 34 T. —2,3, 47 T. —2,9, 58 T. —2,4, 69 T. —3,0.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,6	Tub. III des Menschen (Lupus)	9. 5. 06	9 T. —0,35, 12 T. —0,5, 21 T. —1,6 —2,0, 34 T. —2,1 —2,3, 47 T. —2,6 —3,3, 58 T. —3,1, 69 T. —3,05.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,6	Tub. II des Menschen	9. 5. 06	9 T. —1,0, 21 T. —0,55 —0,5, 34 T. +0,05 + 0,05, 47 T. —0,85, 58 T. —0,2 —0,8, 69 T. —0,25.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,6	Tub. IV des Menschen	21. 5. 06	9 T. —0,9 —0,95, 22 T. —0,55 —0,45, 35 T. —0,8 —0,85, 46 T. —1,05 —2,75, 57 T. —3,0.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,6	Hühnertub. XII	16. 6. 06	20 T. —1,0 —0,6, 31 T. +0,3.
Dieselbe Bouill. 10 ccm Reaktion —1,6	Hühnertub. XIII	16. 6. 06	20 T. +0,8 +0,6, 31 T. +0,45.

Das Verhalten der verschiedenen Bacillentypen hinsichtlich ihrer Einwirkung auf die Reaktion der Bouillon läßt sich durch die untenstehenden Kurven veranschaulichen, die drei einzelne Fälle in Kolben bezw. in Kulturflasche (mit 10 ccm Bouillon) darstellen.

Wie aus den oben angeführten Zahlen hervorgeht, verhält sich der Geflügeltuberkelbacillus in Betreff seiner Reaktionskurve ebenso wie der Rinderbacillus, nur macht er das Substrat weit stärker alkalisch.

In den Kulturfläschchen zeigten die humanen Stämme meistens in ausgeprägtem Grade das von Smith gefundene Verhalten, ja ein einzelner Stamm, Tub. I des Menschen, erzeugte hinsichtlich der Alkalibildung in der Bouillon bedeutend größere Ausschläge, als die von

1) Diese beiden Kolben wurden als diejenigen ausgewählt, die das geringste Wachstum zeigten, um zu erfahren, ob einige Kolben vielleicht noch alkalisch wären.

2) Das in die Kulturflasche hineinragende Ende der winkelrecht gebogenen Glasröhre war in diesem Falle gebogen, um über die Oberfläche emporragen zu können.

Smith beschriebenen, indem er nicht nur den größten Teil der Säure der Bouillon neutralisierte, sondern diese sogar deutlich alkalisch machte; darauf produzierte er im Laufe kurzer Zeit eine beträchtliche Menge Säure.

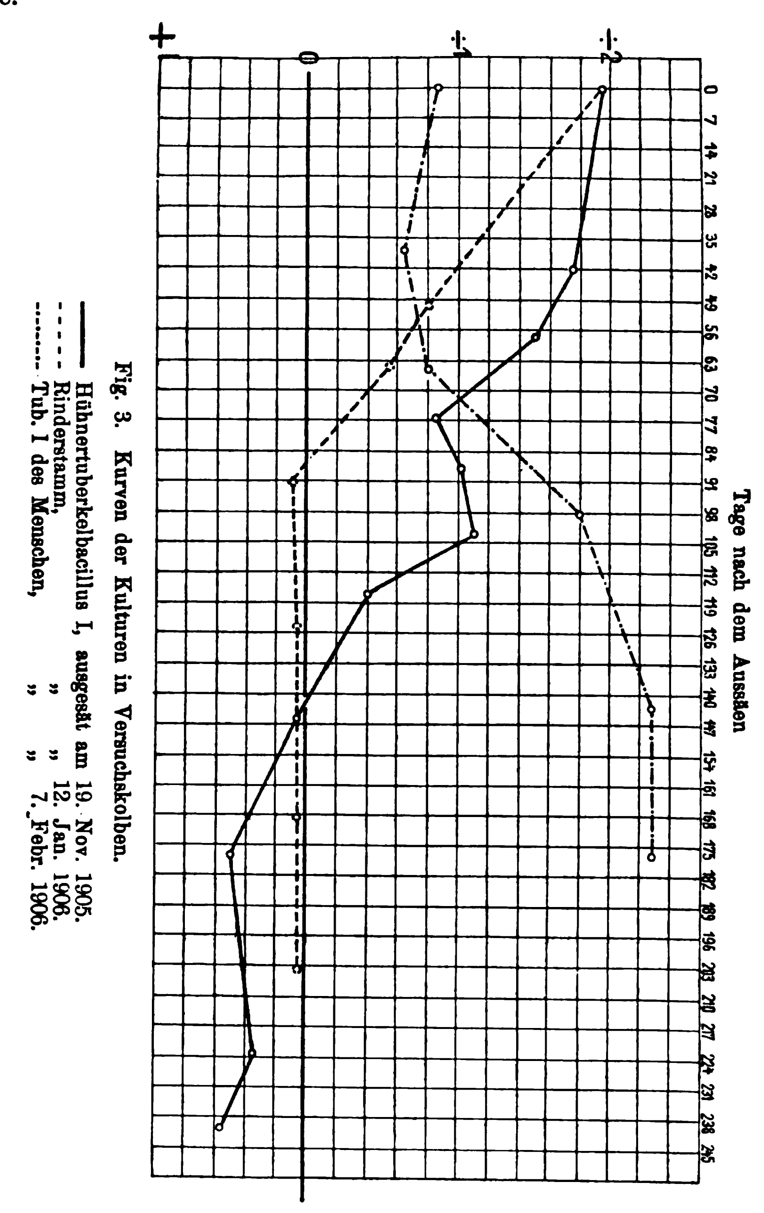


Fig. 3. Kurven der Kulturen in Versuchskolben.

—— Hühnertuberkelbacillus I, ausgesät am 19. Nov. 1905.
- - - - Rinderstamm, " " 12. Jan. 1906.
-·-·-·- Tub. I des Menschen, " " 7. Febr. 1906.

Smith[1]) meint, der von ihm nachgewiesene steigende Säuregrad gegen Ende der Wachstumsperiode könne die Folge davon sein, daß sich wegen der stark zunehmenden Anzahl der Bacillen geschwinder

1) Journ. of Med. Research. Vol. XIII. 1905. No. 4.

Säure bilde, während die gleichzeitig stattfindende Alkalibildung deshalb vermindert werde, weil die Geschwindigkeit des Wachstums (the rate of growth) wegen des Verbrauches anderer Nährstoffe allmählich abnehme und gehemmt werde.

Daß humane Stämme in Kulturfläschchen den neutralen Punkt sogar zu überschreiten vermögen, könnte möglicherweise davon herrühren, daß

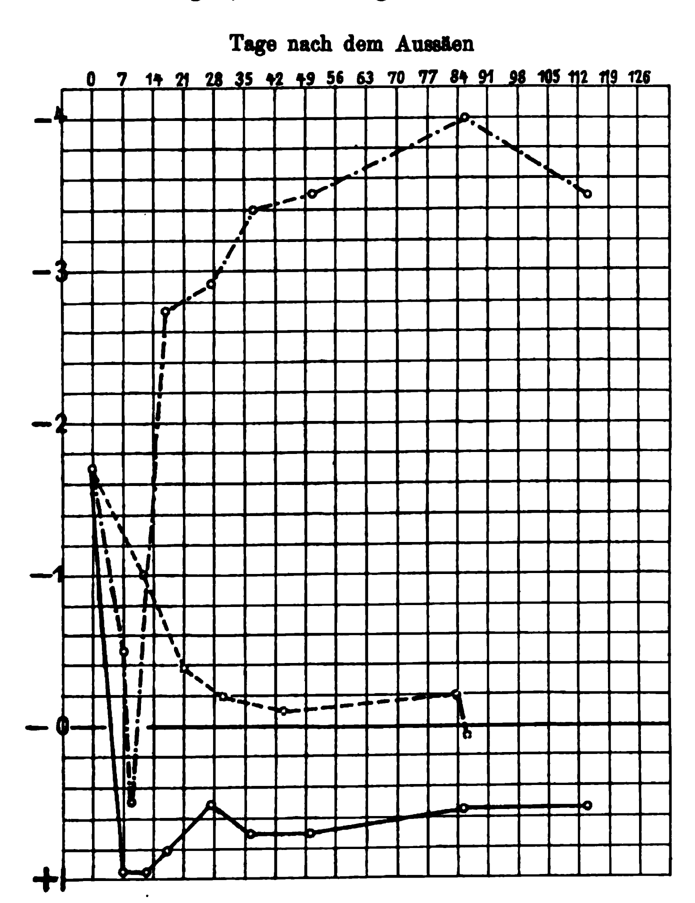


Fig. 4. Kurven der Kulturen in Kulturfläschchen.

———	Hühnertuberkelbacillus I,	ausgesät am	25.	März	1906.
-·-·-·-·	Tub. I des Menschen,	„ „	25.	„	1906.
- - - - -	Rindertuberkelbacillus,	„ „	31.	„	1906.

viele Bacillen von relativ gleichem Alter auf einmal auf die geringe Flüssigkeitsmenge einwirkten. Hat man eine größere Menge Bouillon, so gehört folglich eine größere Anzahl Bacillen dazu, auf die Reaktion der Bouillon einzuwirken; bevor der neutrale Punkt erreicht wird, gibt es daher eine größere Menge „älterer“ Kultur, und diese wird, sie möge nun absolut oder relativ stärker säureproduzierende Fähigkeit besitzen als der jüngere Teil der Kultur, die bedeutende, von den neu entstandenen Bacillen gebildete Alkalimenge neutralisieren, ja nach und nach völlig maskieren.

Um zu untersuchen, ob die Sauerstoffmenge irgendwelchen Einfluß auf die Reaktionskurve ausübe, versuchte ich es, Tuberkelbacillen in einer Sauerstoffatmosphäre in Kulturfläschchen zu züchten, die mit einem Paraffinpfropfen verschlossen wurde. Das Wachstum wurde hierdurch bedeutend herabgesetzt, besonders in betreff der Säugetierstämme. Ferner machte ich den Versuch, die atmosphärische Luft in Kulturfläschchen, die mit Tub. I des Menschen besät waren, abzusperren, indem ich die Fläschchen mit einem Gummipfropfen verschloß. Hierdurch wurde das Wachstum der Tuberkelbacillen ebenfalls herabgesetzt.

Beide Versuche wirkten also ungünstig auf das Wachstum der Bacillen ein, aber dennoch hatte deren Reaktionskurve dasselbe Aussehen wie sonst; was den Stamm des Menschen betrifft, so war der Ausschlag — anfangs in der Richtung der Alkalibildung, später in der Richtung der Säurebildung — selbstverständlich doch geringer als in den früher besprochenen Fläschchen. Die Zahlen für die mit Gummipfropfen verschlossenen und mit Tub. I des Menschen besäten Fläschchen waren folgende:

Bouillonmenge 10 ccm. Reaktion —1,7. Die Reaktion nach 18 Tagen —0,5, 27 T. —0,85, 36 T. – 0,5 —0,55, 50 T. —1,2, 90 T. —1,1.

Diese Zahlen werden angeführt, weil sie einer früher aufgestellten Ansicht[1]) zu widersprechen scheinen, nämlich der, daß das Abweichen der Reaktionskurve der bovinen Bacillen von der der humanen Bacillen von dem Umstande herrühren sollte, daß erstere durchweg langsamer wüchsen und dünnere Häutchen bildeten als letztere, welches Verhalten auch der von mir benutzte bovine Stamm erwies.

Die Geflügeltuberkelbacillen, die auf Bouillon ein besonders dickes Häutchen bilden, haben ja, wie bereits gesagt, dieselbe Reaktionskurve wie die Rinderbacillen; auch dies scheint darauf hinzudeuten, daß es für die verschiedenen Reaktionen der verschiedenen Bacillustypen eine tiefere Ursache gibt, als verschiedene Energie des Wachstums.

Um zu untersuchen, wie es mit der Reaktionskurve eines humanen Stammes gehen würde, wenn man die Bouillon nach ihrer Alkalisierung wechselte, besäte ich eine größere Anzahl Kulturfläschchen mit Tub. I des Menschen, Reaktion — 1,7. 10 Tage später nahm ich 25 derselben heraus, die anscheinend dasselbe Wachstum darboten. Die Bouillon wurde mittels steriler Pipetten abgezogen. Aus 10 der Fläschchen, aus jedem für sich, wurde die Bouillon titriert. Die Reaktion schwankte zwischen +0,3 und —0,1. Diesen Fläschchen wurde frische Bouillon zugesetzt, die ebenso zubereitet war wie diejenige, auf welche die Bacillen gesät worden waren. Die Bouillon aus den 15 Fläschchen wurde zusammengegossen. Eine entnommene Probe zeigte, daß die Reaktion der zusammengegossenen Bouillon neutral war. Die Bouillon wurde darauf mit Milchsäure sauer gemacht, so daß die Reaktion —1,9 wurde, und dann autoklaviert und wieder in 12 der 15 Kulturfläschchen gegossen. Die Bacillen gediehen fortwährend gut in Fläschchen, die auf irgendeine dieser beiden Arten behandelt waren.

Wie zu erwarten stand, wirkte das Wechseln mit frischer Bouillon wie ein Umsäen, die Acidität der Bouillon nahm während der ersten Zeit ab, um darauf wieder zu steigen. Die Form der Kurve blieb indes auch dieselbe hinsichtlich der Fläschchen, denen dieselbe Bouillon, zwar

1) Rabinowitsch, Lydia, Untersuchungen über die Beziehungen zwischen der Tuberkulose des Menschen und der Tiere. Berlin 1906.

aber in saurem Zustande, zugesetzt wurde. Dies hängt vermutlich davon ab, daß die Bacillen ein Optimum ihres Wachstums bei einem gewissen Säuregrad haben; die saure Bouillon hat daher wahrscheinlich der Kultur größere Energie des Wachstums verliehen, als dieselbe besaß, nachdem sie die Bouillon alkalisch gemacht hatte, was sich wieder durch stärkere Alkalibildung kundgibt. Ganz ausgeschlossen ist es jedoch nicht, daß die stärkere Alkalibildung auch davon herrühren könnte, daß durch das Autoklavieren oder durch den Zusatz von Säure gewisse Stoffwechselprodukte in der Bouillon destruiert worden wären.

Ein Umstand, der ebenfalls den Einfluß der Acidität beleuchtet, kam zum Vorschein, wenn der Tub. I des Menschen auf schwach alkalische Bouillon, Reaktion +0,1 in Kulturfläschchen, gesät wurde. Während der 1. Woche gedieh die Kultur gut, wenn auch etwas weniger gut als in Kontrollgläschen mit saurer Reaktion; die Alkalität war dann bis +0,6 +0,5 gestiegen. Darauf geriet das Wachstum ins Stocken, und es scheint, als ob es den Bakterien Schwierigkeit bereitete, diese Menge Alkali zu neutralisieren, da sie erst nach Verlauf von 4 Wochen die Bouillon sauer machten.

Der letzte Versuch zeigt ebenso wie die Versuche, Tuberkelbacillen bei verschiedener Sauerstoffspannung zu züchten, daß man dadurch, daß man die Bacillen unter ungünstige Verhältnisse bringt, zwar im stande ist, die Kurve eines typischen humanen Bacillus ein wenig hinsichtlich der Form zu ändern, daß man dagegen aber nicht vermag, den Charakter der Kurve zu ändern, so daß diese mit der Kurve eines Rinder- oder Geflügeltuberkelbacillus verwechselt werden könnte.

Sind im Blutserum von mit Schweinepest- und Milzbrandbacillen tödlich infizierten Kaninchen wirksame oder giftige Stoffwechselprodukte nachweisbar?

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Straßburg i. E.]

Von Prof. Dr. **E. Levy** und Dr. **L. Beckmann.**

Schon vielfach ist es versucht worden, bei Bakterien, die sich dadurch auszeichnen, daß sie bei tödlicher Infektion sich maßlos in den befallenen Organismen vermehren, wirksame, wenn möglich spezifisch wirkende giftige Stoffwechselprodukte sich zu verschaffen. Gerade die Erreger der Schweinepest und des Milzbrandes sind häufig hierzu herangezogen worden. Dr. Schweinitz (1) stellte aus Hogcholerabouillonkulturen nach den Briegerschen Methoden Cadaverin, ein primäres Amin und ein Toxalbumin dar. Novy (2) gewann nach denselben Verfahren eine toxische Base, sein „Susotoxin“ und ein Toxalbumin. Selander (3) erstrebte den Nachweis der Gifte im Tierkörper. Er fand, daß das defibrinierte, durch 1-stündiges Erhitzen auf 57° sterilisierte Blut von Kaninchen, die mit hochvirulenten Schweinepestbacillen zu Falle gebracht waren, toxisch wirkte. Die tödliche Dose betrug bei subkutaner Einverleibung 8 ccm, bei intravenöser 3,5. Die von ihm im Blute angenommene „toxische Substanz“ geht, wenigstens z. T., durch Porzellanfilter, sie wird durch Temperaturen oberhalb 57° unwirksam gemacht. Die

Experimente von Selander sind von Metschnikoff (4) und Silberschmidt (5) vollauf bestätigt worden. Selander betont, daß die ungeheure Zahl der im Blute der Schweinepestkaninchen sich befindlichen Bacillen, die schnelle Bildung der giftigen Stoffwechselprodukte, oder wie er sie damals nannte, der Toxine, erklärte. Auf die Bakterienleiber selbst haben dann Voges und sein Schüler Selberg (6) die Aufmerksamkeit gelenkt. Nach ihnen handelt es sich bei den Schweinepestbacillen um intracelluläre, um Leibesgifte im Sinne von R. Pfeiffer. Karlinski (7) kam zu ähnlichen Ergebnissen. Im Jahre 1899 hat E. Levy durch seinen damaligen Schüler Conradi (8) die Frage nach der Bildung giftiger Produkte durch den Milzbrandbacillus einer eingehenden Prüfung unterziehen lassen. In dieser Dissertation ist die einschlägige Literatur ausführlich besprochen worden. Die durch Conradi ausgeführten zahlreichen Versuche zeitigten ein negatives Resultat, es konnte weder ein extracelluläres noch ein intracelluläres Gift nachgewiesen werden. E. Levy und Pfersdorff (9) haben dann durch Autolyse unter Toluol versucht, den schwer zugänglichen in der Leibessubstanz enthaltenen Stoffwechselprodukten der Milzbrandbacillen näher zu treten. Fs gelang ihnen, ein Labferment, ein Gelatine lösendes und ein Fett spaltendes Ferment aus asporogenen Milzbrandbacillen zu gewinnen. Außerdem bekamen sie ein Gift, das Mäuse sofort nach der Einspritzung erkranken ließ und, in ganz großen Mengen einverleibt, auch tötete. Vaughan (10) hat durch Behandlung von Milzbrandbacillenleibern mit 1 $^0/_0$ Schwefelsäure und Alkohol Auszüge gewonnen, die für Ratten und Meerschweinchen giftig wirkten.

Für unsere eigenen Versuche, bei den Erregern der Schweinepest und des Milzbrands nach giftigen Stoffwechselprodukten zu suchen. gingen wir von der Ueberlegung aus, daß, wenn überhaupt solche Stoffe gebildet würden, sie im lebenden Organismus und zwar sicherlich auch im Blutserum zu treffen sein müßten. Weiß man doch, daß bei denjenigen Erkrankungen, die dadurch charakterisiert sind, daß bei ihnen spezifisch wirkende Toxine erzeugt werden, bei Tetanus und Diphtherie, diese im Blutserum häufig aufzuspüren sind. Für Tetanus hat Nissen (11) diese Tatsache erwiesen, er wurde bestätigt von Vulpius (12), Kitasato (13), Buschke und Oergel (14), Jacob (15), Kühnau (16) für das Blutserum tetanuskranker Menschen, von Ransom (17) und Asakawa (18) für dasjenige tetanusinfizierter Tiere. Den Nachweis von Diphtheriegift im menschlichen Blute haben Brieger und Wassermann (19) Loos (20) und in systematischer Weise in der allerletzten Zeit, als wir bereits unsere Versuche beendigt hatten, Uffenheimer (21) geführt. Für die übrige Literatur in dieser Frage bei Diphtherie verweisen wir auf diese letzte Arbeit, wir möchten den dort angeführten Veröffentlichungen noch die von Koudrevetzki (22) hinzufügen.

Wir infizierten Kaninchen mit tödlichen Dosen von Schweinepest- und Milzbrandbacillen subkutan und entnahmen ihnen in der Agone das Blut aus der Carotis. Die aus den sterbenden Kaninchen unter Innehaltung peinlichster Asepsis gewonnene Blutmenge betrug in der Regel 3,5—4,5 $^0/_0$ ihres Körpergewichts. Bei den Milzbrandtieren, die gewöhnlich alle am 3. Tage starben und bei den Schweinepesttieren, die vor dem 8. Tage zu Grunde gingen, zeigte der Blutkuchen makroskopisch nichts Abnormes. Der Blutkuchen der Schweinepestkaninchen, die länger als 8 Tage lebten, bot dagegen ein milchschokoladenfarbenes, grau und rot marmoriertes, leukämisches Aussehen dar. Er hatte auch wenig

Neigung, das in ihm enthaltene Serum auszupressen. Man mußte sich durch folgenden Kunstgriff helfen. Vermittelst eines sterilen, dünnen, vorn abgeflachten Glasstabs wurde der Blutkuchen von der Wand des Cylinders losgetrennt und in einen anderen sterilen Cylinder mit weiterem Lumen übergegossen, worauf es dann innerhalb 2 Tagen zur völligen Ausscheidung des Serums kam. Das Milzbrandserum sowohl als auch das Schweinepestserum wurde in sterile Röhrchen abgefüllt und 20 bis 30 Minuten zentrifugiert. Hierauf wurden nur die oberen Schichten des Serums mit steriler Spritze ganz vorsichtig abgesaugt und zur weiteren Verwendung aufbewahrt. Nach einigen anfänglichen Mißerfolgen konnten schließlich so 60 % des Infektionsserums keimfrei vom Blutkuchen getrennt werden. Aus dem Zentrifugenschlamm ließen sich stets die Bakterien nachweisen.

Vom Schweinepestinfektionsserum erhielt zunächst ein Kaninchen die Menge von 8 ccm, welche Selander für sein Blut als die sicher tödliche gefunden hatte, subkutan. Als einziges Resultat erzielten wir nur eine mehrere Stunden anhaltende Temperatursteigerung von einem halben Grad. Wir entschlossen uns deshalb, gleich allen anderen Schweinepest- und Milzbrandversuchstieren eine Serummenge unter die Haut einzuspritzen, die ungefähr dem eigenen Gehalt ihres Blutes an Serum entsprach. Das Blut des Kaninchens beträgt nach Munk (23) $^1/_{19}$ des Körpergewichtes. Hierbei war folgender Gedankengang für uns maßgebend. Größere Mengen von giftigen Stoffen werden jedenfalls im Serum nicht aufgespeichert. Wenn aber überhaupt welche darin auftreten, so durfte man erwarten, daß bei einer tödlich verlaufenden Infektion wenigstens so viele im Gesamtserum vorhanden sein mußten, um ein gleich großes Tier damit zu Fall bringen zu können.

Wir haben nachstehend die Einzelheiten der Versuchsreihe in Tabellenform zusammengestellt. Tabelle I gibt Aufschluß über die Ex-

Tabelle I.

Schweinepest-Infektionsserum-Kaninchen.

Abkürzungen: IS Infektionsserum, NS Normalserum, ISK Infektionsserum-Kaninchen, NSK Normalserum-Kaninchen, Sp Schweinepest, Mzbd Milzbrand.

SpISK	II		III		IV		V		VI		VII		VIII	
Vor der Impfung	Temperatur	Gewicht in g	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.
	39,0°	1110	38,9°	1130	39,1°	1120	38,8°	1450	39,4°	1310	39,8°	1160	39,8°	1130
Injizierte Serummenge	35 ccm		35 ccm		35 ccm		45 ccm		41 ccm		37 ccm		35 ccm	
Nach der Impfung	Temperatur	Gewicht	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.
6 Stunden	40,4°	—	40,1°	—	40,5°	—	40,1°	—	39,9°	—	40,5°	—	40,0°	—
12 „	41,1°	—	40,2°	—	41,1°	—	40,6°	—	41,2°	—	41,3°	—	40,7°	—
24 „	39,7°	—	40,5°	—	39,7°	1080	39,9°	—	41,0°	—	41,5°	—	39,4°	—
36 „	39,0°	—	39,9°	—	zu		39,3°	1440	39,8°	1270	41,7°	1145	39,6°	—
48 „	39,2°	1085	39,5°	1125	weiterem		39,9°	—	40,0°	—	41,5°	—	39,3°	1090
60 „	39,5°	—	—	—	Versuch		39,6°	—	40,0°	—	40,0°	—	—	—
3 Tage	—	—	—	—	verwandt		39,2°	—	39,8°	—	40,8°	1120	—	—
4 „	—	1135	—	—	—	—	39,5°	1490	39,5°	1295	39,8°	—	—	1220
8 „	—	1185	—	—	—	—	—	—	—	—	39,2°	1235	—	1240

perimente mit Schweinepestinfektionsserum, Tabelle II über die mit Milzbrandinfektionsserum.

Tabelle II.
Milzbrand-Infektionsserum-Kaninchen.

MzbdISK	I		II		III		IV		V	
Vor der Impfung	Temp.	Gew.	T.	G.	T.	G.	T.	G	T.	G.
	39,5°	1400	39,1°	1065	38,9°	1330	39,4°	1050	39,5°	890
Injizierte Serummenge	43 ccm		35 ccm		42 ccm		35 ccm		28 ccm	
Nach der Impfung	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.
6 Stunden	39,8°	—	—	—	—	—	39,7°	—	—	—
12 „	39,3°	—	40,5°	—	40,0°	—	40,2°	—	40,5°	—
24 „	39,3°	—	40,7°	—	40,2°	—	40,2°	—	40,7°	—
36 „	39,4°	1420	40,1°	—	39,8°	—	40,0°	1010	39,8°	—
48 „	—		40,0°	1025	39,6°	1370	40,1°	—	39,9°	800
60 „	—		39,8°	—	39,7°	—	39,9°	—	39,3°	—
3 Tage	—		39,6°	—	39,5°	—	39,7°	—	—	—
4 „	—	1520	39,4°	1045	39,3°	1360	39,9°	1040	—	—
8 „	lebt		lebt		lebt		39,5°	1120	lebt	1070
							lebt			

Ein Vergleich der beiden Tabellen ergibt, daß sowohl das Infektionsserum von Schweinepest als auch dasjenige von Milzbrand gleiche Erscheinungen hervorrief. Bei sämtlichen Tieren ließ sich eine 1—3 Tage andauernde Temperatursteigerung von 1,5—2° konstatieren; die Injektionsstelle und ihre Nachbarschaft fühlten sich vermehrt warm an, das Körpergewicht nahm fast regelmäßig ab. Eine eigentliche Giftwirkung war jedoch niemals zu beobachten. Auf die Temperaturerhöhungen dürfen wir kein Gewicht legen, denn wie Kontrolluntersuchungen lehren, die in Tabelle III niedergelegt sind, zeitigt die Injektion

Tabelle III.
Normalserum-Kaninchen.

NSK	I		II		III		IV		V		VI		VII	
Vor der NS-Impfung	Temperatur	Gewicht	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.
	39,1°	1150	38,9°	1175	39.0°	1505	39,6°	640	38,9°	1520	39,1°	960	39,8°	1180
Injizierte NS-Mengen	35 ccm		36 ccm		47 ccm		20 ccm		46 ccm		35 ccm		35 ccm	
Nach der Impfung	Temperatur	Gewicht	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.	T.	G.
6 Stunden	41.1°	—	40,1°	—	40,0°	—	40,5°	—	39,2°	—	39,7°	—	—	—
12 „	41,1°	—	39,8°	—	41,3°	—	40,4°	—	39,7°	—	40,1°	—	40,5°	—
24 „	39.7°	—	39,8°	—	41,1°	—	40.9°	—	39,2°	—	39,9°	—	40,2°	—
36 „	39,3°	—	39,5°	—	40,1°	1440	39,6°	600	39,5°	1570	39,7°	—	39,5°	—
2 Tage	39,4°	1185	38,7°	1215	zu weiterem Versuch benutzt		39,4°	620	normal	—	39,6°	950	—	1100
4 „	39,3°	1200	—	1295			zu weiterem Versuch benutzt			—	39,6°	920	—	1260
6 „	39,2°	1200	—							1740	—	970	—	1290

von entsprechenden Mengen Kaninchennormalserums bei Kaninchen dieselben Temperaturbewegungen. Nur ein Kaninchen V zeigte keine Erhöhung. Vielleicht läßt sich das Nichteintreten dadurch erklären, daß dieses Tier den ganzen Tag vor der Einspritzung gehungert hatte.

Wir müssen deshalb die Schlußfolgerung ziehen, daß die beiden zur Prüfung herangezogenen Bacillen des Milzbrandes und der Schweinepest keine giftigen Stoffwechselprodukte im gewöhnlichen Sinne des Wortes erzeugen, die in das Blutserum übergehen.

Es gelingt nun aber trotzdem, mit den angegebenen Mengen von Schweinepest-Infektionsserum Kaninchen gegen sonst tödliche Dosen von Schweinepestbacillen zu immunisieren. Mit Milzbrand ließen sich ähnliche Versuche wegen der außerordentlich großen Kaninchenvirulenz unseres Milzbrandstammes nicht anstellen. Tabelle IV gibt die Resultate unserer Schweinepestimmunisierungsversuche.

Tabelle IV.

SpISK	IV	III	V	II	VII	VIII
Tagesanzahl nach der IS-Impfung u. Infektion	1	3	5	11	11	11
Eingespritzte Kulturmenge	$^1/_{500}$ ccm Bk. = Bouillonkultur	$^1/_{500}$ ccm Bk.	$^1/_{100000}$ ccm Bk.	$^1/_{100000}$ ccm Bk.	$^1/_{500}$ ccm Bk.	$^1/_{500}$ ccm Bk.
Bakterienanzahl	910,000	624,000	4095	3600	604,800	604,800
Ergebnis	† nach 7 T.	† nach 24 T.	† nach 10 T.	lebt	lebt	lebt
Bemerkung	Bakterien in allen Organen nachgewiesen	Bakterien im Käse der Impfstelle, des Darmes, in d. Lebernekrosen	Bakterien in allen Organen nachgewiesen	vertrug später $^1/_{500}$, $^1/_{100}$, $^1/_{50}$, $^1/_5$ und 1 ccm B-Kultur	vertr. dasselbe wie ISK II	—

Die Einverleibung ganz großer Mengen von keimfreiem Serum von tödlich mit Schweinepest infizierten Kaninchen zeitigt bei normalen Kaninchen eine Immunität gegen eine sonst letale Dosis. Kontrollversuche mit normalem Kaninchenserum lieferten ein negatives Resultat. Der Zustand des Geschütztseins tritt erst nach dem 5. Tage, in den vorliegenden Versuchen am 11. Tage ein. Diese Befunde sprechen entschieden dafür, daß in dem betreffenden Infektionsblutserum Stoffe, Abkömmlinge der Schweinepestbacillen, sich vorfinden müssen, welche eine Immunität und zwar eine aktive, hervorzurufen in der Lage sind. Welcher Art diese Stoffe sind, läßt sich vorläufig nicht entscheiden. Vielleicht gehören sie in die Kategorie derjenigen, die für sich allein keine giftigen Wirkungen ausüben, aber doch in Gemeinschaft mit den Erregern das Krankheitsbild verstärken oder untertödliche Dosen der letzteren zu tödlichen machen. [Aggressine von Bail (24), weiter E. Levy und Fornet (25)]. Einige Erfahrungen scheinen für diese Annahme zu sprechen, doch möchten wir noch keine bindenden Folgerungen ziehen. Zum Schluß wollen wir noch erwähnen, daß die nach Einspritzung von Infektionsserum gegen einfach tödliche Dosen refraktären Kaninchen

späterhin, wie gleichfalls aus Tabelle IV ersichtlich ist, große Dosen bis zu 1 ccm Bouillonkultur von Schweinepestbacillen ertrugen.

Literatur.

1) de Schweinitz, A preliminary study of the ptomaines of the hog cholera germ. (Philadelphia med. News. 1890. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. IX.)
2) Novy, The toxic products of the bacillus of hog cholera. (Philadelphia med. News. 1890. Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. IX).
3) Selander, Contribution à l'étude de la maladie infectieuse des porcs. (Annales de l'Institut Pasteur. 1890.)
4) Metschnikoff, Études sur l'immunité. (Annales de l'Institut Pasteur. 1892.)
5) Silberschmidt, Contribution à l'étude de la swine plague, du hog cholera et de la pneumoentérite des porcs. (Annales de l'Institut Pasteur. 1895.)
6) Selberg, Beiträge zur Kenntnis der Giftwirkung der Schweineseuchebakterien und anderer bakteriologisch verwandter Arten. (Inaug.-Dissert.) Berlin 1896.
7) Karlinski, Experimentelle Untersuchungen über Schweinepest und Schweineseuche. (Zeitschr. für Hygiene und Infekt. Bd. XXVIII.)
8) Conradi, Zur Frage der Toxinbildung bei den Milzbrandbakterien. (Inaug.-Dissert. Straßburg 1899 und Zeitschr. f. Hygiene und Infekt. Bd. XXXI.)
9) Levy, E. u. Pfersdorff, Ueber die Gewinnung der schwer zugänglichen in der Leibessubstanz enthaltenen Stoffwechselprodukte der Bakterien. (Deutsche medizin. Wochenschr. 1902.)
10) Vaughan, The intracellular toxins of some of the pathogenic bacteria. (Journ. of the Americ. med. Assoc. 1903. Ref. Centralbl. f. Bakt. Referate Bd. XXXIV.)
11) Nissen, Ueber den Nachweis von Toxin im Blute eines an Wundstarrkrampf erkrankten Menschen. (Deutsche mediz. Wochenschr. 1891.)
12) Vulpius, Ueber einen Fall von Wundstarrkrampf mit Tierversuchen. (Deutsche med. Wochenschr. 1893.)
13) Kitasato, Experimentelle Untersuchungen über das Tetanusgift. (Zeitschr. für Hygiene. Bd. X.)
14) Buschke u. Oergel, Beitrag zur Kenntnis des Tetanus. (Deutsche med. Wochenschr. 1893.)
15) Jacob, Ueber einen geheilten Fall von Tetanus puerperalis. (Deutsche med. Wochenschr. 1898.)
16) Kühnau, Ein Fall von Tetanus puerperalis. (Berliner klin. Wochenschr. 1898.)
17) Ransom, Das Schicksal des Tetanusgiftes nach seiner intestinalen Einverleibung. (Deutsche med. Wochenschr. 1898.)
18) Asakawa, Die Basis der natürlichen Immunität des Huhnes gegen Tetanusgift. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIV.)
19) Brieger u. Wassermann, Beobachtungen über das Auftreten von Toxalbuminen beim Menschen. (Charité-Annalen Bd. XVII.)
20) Loos, Untersuchungen über das Verhalten des Blutserums gesunder und diphtheriekranker Kinder zum Diphtherietoxin. (Wiener klin. Wochenschr. 1896.)
21) Uffenheimer, Der Nachweis des Toxins im Blute des Diphtheriekranken. (Münchener med. Wochenschr. 1906.)
22) Koudrevetzki, Recherches expérimentales sur l'immunisation contre la diphthérie. (Archives de médecine expériment. et d'anatomie pathol. T. V.)
23) Munk, Physiologie des Menschen und der Säugetiere. 3. Aufl.
24) Bail, Untersuchungen über Typhus und Choleraimmunität. (Arch. f. Hygiene. Bd. LII.) In demselben Bande auch die Arbeiten seiner Schüler Kikuchi u. Weil. S. auch Bail u. Weil, Centralbl. f. Bakt. Bd. XL, Orig. Weil, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI, Orig. u. s. w. u. s. w.)
25) Levy, E. u. Fornet, Nahrungsmittelvergiftung und Paratyphus. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XLI.) — Dieselben, Ueber Filtrataggressine. (Deutsche med. Wochenschr. 1906.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über eine neue menschen- und tierpathogene Hefeart (Saccharomyces membranogenes).

Von Dr. med. **F. Steinhaus,**
Stadtassistenzarzt, ehem. Assistent am hygienisch-bakteriologischen Institute der Stadt Dortmund.

Mit 3 Figuren.

A. Einleitung.

Seit der bedeutsamen Entdeckung von Busse im Jahre 1894, daß Blastomyceten als Erreger einer Allgemeinerkrankung des Menschen betrachtet werden können, die er mit dem Namen Saccharomycosis hominis belegte [cf. Ueber parasitäre Zelleinschlüsse und ihre Züchtung (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1894); Ueber Saccharomycosis hominis (Virchows Arch. Bd. CXL. 1895); Experimentelle Untersuchungen über Saccharomycosis (Virchows Arch. Bd. CXLIV. 1896); Die Hefen als Krankheitserreger. Monographie. Berlin (Hirschwald) 1897); Die Sproßpilze (Kolle-Wassermanns Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. 1903)], haben die Hefepilze eine große Rolle in der Bakteriologie gespielt. Die überwiegende Zahl der Autoren, die sich späterhin mit Untersuchungen über die Sproßpilze befaßten, richteten ihr Augenmerk vornehmlich auf den Nachweis von Blastomyceten in malignen Tumoren, um der Theorie von der parasitären Aetiologie der Geschwülste eine exakte Stütze eventuell zu geben; die Frage nach der ätiologischen Bedeutung der Hefen für andersartige pathologische Prozesse beim Menschen trat gegenüber diesem Bestreben sehr in den Hintergrund. So kommt es wohl, daß, namentlich im Anschlusse an die Arbeiten von Sanfelice, eine überaus reichliche Literatur über Blastomycetenbefunde in bösartigen Geschwülsten entstanden ist, hingegen nur spärliche Arbeiten vorliegen, die sich mit dem Nachweise befassen, daß Blastomyceten auch als Ursache sonstiger Erkrankungen des Menschen in Frage kommen.

Von großem Interesse ist nächst der von Busse beschriebenen Erkrankung der von Curtis [Presse médicale. 1895. 28. Sept.; Société de Biologie. 1895. 9. Nov.; Contribution à l'étude de la Saccharomycose humaine (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1896)] beobachtete Fall von Saccharomykose bei einem jungen Manne, der multiple Tumoren der Haut aufwies, die sich als tumorartige Anhäufungen von Hefezellen herausstellten. Der Patient starb unter meningitischen Erscheinungen. Die Sektion ist leider unterblieben.

Diesen beiden als vollkommen einwandsfrei anerkannten Beobachtungen reiht sich die Publikation von Corselli und Frisco [Pathogene Blastomyceten beim Menschen (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. 1895)] an. Den genannten Autoren gelang der Nachweis einer für Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde pathogenen Hefeart aus chylöser Ascitesflüssigkeit bei einem Patienten intra vitam, und post mortem aus Pseudotumoren der Mesenterialdrüsen und des Netzes. Leider ist die Beschreibung des Sektionsbefundes, der Eigenschaften der Hefe und der angestellten Tierversuche so gehalten, daß man Busse unbedingt recht geben muß, wenn er (Kolle-Wassermann, Bd. I. p. 681) sagt, man

könne sich über das, was den Autoren vorgelegen habe, kein Urteil bilden.

Von weiteren Krankheitsbildern verdient die Blastomykose der Haut erwähnt zu werden. Man darf es heute wohl als sicher ansehen, daß Blastomyceten diese eigenartige Hautkrankheit hervorrufen können, da Buschke [Ueber Hefemykosen bei Menschen und Tieren (Volkmanns Samml. klin. Vortr. 1898. No. 218); Ueber Hautblastomykose (Verhandl. des VI. Deutschen Dermatologen-Kongresses. 1897); Die Blastomykose (Bibliotheca medica. Abt. D. Bd. II. 1902. Heft 10); Die Blastomykose (Referat im Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXVIII u. LXIX. 1903) den Saccharomyces Busse aus den Hauteffloreszenzen bei der Patientin isolieren konnte, die das charakteristische Bild der Hautblastomykose darbot. Die zahlreichen übrigen beschriebenen Fälle gehören aber wohl nicht hierhin, da es sich nach den Schilderungen der Krankheitserreger, weil sie Mycelien bildeten, um Oidien, nicht um Blastomyceten resp. Torula-Arten gehandelt hat (Gilchrist, Gilchrist and Stokes, Hectoen u. A.).

Colpe [Hefezellen als Krankheitserreger im weiblichen Genitalkanal (Arch. f. Gyn. Bd. XLVII. 1894)], Busse und Buschke konnten ferner bei chronischem Katarrh des Endometriums Blastomyceten mit der Erkrankung in ursächlichen Zusammenhang bringen.

Busse gelang dann der Nachweis von Blastomyceten bei einer Reihe von Fällen chronischer Schleimhauterkrankung der Nase (cf. Die Hefen als Krankheitserreger. Berlin 1897).

Es wären weiter anzufügen die Beobachtungen von Stöwer [Ueber die Wirkung pathogener Hefen am Kaninchenauge (Arch. f. Ophthalmol. Bd. XLVIII)] und Lundsgaard (ref. Baumgartens Jahresbericht. 1899), die pathogene Hefen bei je einem Falle von Keratitis isolierten.

In der Sitzung des Vereins für innere Medizin in Berlin vom 1. Dez. 1902 (ref. Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 50) berichtete Weber über Krankheit und Sektionsbefund bei einem 2-jährigen Kinde. Die Sektion ergab tuberkelähnliche Gebilde in mehreren Organen, in welchen Blastomyceten nachgewiesen werden konnten. (Eine ausführliche Bearbeitung dieses gewiß interessanten Falles habe ich in der Literatur nicht ausfindig machen können.)

Emma Dübendorfer hat ferner im Centralbl. f. Dermatologie. Bd. VII. 1904 einen Fall von Onychomycosis blastomycetica beschrieben. Aus der Nagelsubstanz und dem unter dem Nagel gebildeten Eiter konnte eine Blastomycetenart in Reinkultur isoliert werden, die für weiße Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen pathogen war.

v. Hansemann registriert [cf. M. B. Schmidt, Bericht über die Verhandlungen der Deutschen pathologischen Gesellschaft. 9. Tagung. Meran 1905 (Centralbl. f. allgem. Pathol. u. patholog. Anat. Bd. XXVI. 1905. No. 20)] eine eigentümliche Erkrankung des Gehirns, die durch Hefe hervorgerufen war. Das Großhirn und die Wand der Ventrikel waren von dichtgestellten kleinen Cysten durchsetzt, die eine trübe Flüssigkeit enthielten, die auch die Meningen infiltrierte und im Duralsack vorhanden war. Die Trübung war bedingt durch Hefen, die nicht gezüchtet werden konnten. Sonst fanden sich im Organismus keine Hefeansiedelungen. Der Patient war an tuberkulöser Lungenphthise und unter meningitisähnlichen Erscheinungen gestorben.

Im Hinblick auf die Untersuchungen, die ich im nachstehenden schildern möchte, ist dann eine Beobachtung von Brazzola von großem

Interesse. Ich entnehme dem Referate über seine Arbeit in Baumgartens Jahresbericht. 1896 — leider war die Originalarbeit mir nicht zugänglich, obwohl deren genaue Kenntnis für mich von größtem Werte wäre — daß Brazzola bei einem Kinde, das unter den Erscheinungen einer schweren Diphtherie starb, aus den Membranen eine tierpathogene Hefe isolierte. Bei der bakteriologischen Untersuchung der diphtherischen Membranen wuchsen keine Diphtheriebacillen, sondern fast in Reinkultur ein Saccharomycet, der die größte Aehnlichkeit mit dem von Busse beschriebenen hatte. Bei Ueberimpfungen auf Versuchstiere bewirkte er eine Erkrankung, die der beim Menschen beobachteten völlig glich und in Entzündung, Nekrose und allgemeiner Intoxikation bestand.

Schließlich berichtet jüngst Türk (ref. Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 28) über einen Fall von Meningitis saccharomycotica (Hefemeningitis). Bei einer an Tuberculosis pulmonum leidenden Patientin stellten sich sub finem vitae die klinischen Erscheinungen einer Meningitis ein. Die Diagnose lautete anfänglich auf Meningitis tuberculosa; sie mußte aber bald geändert werden, nachdem es gelungen war, mehrere Male in dem gewonnenen Lumbalpunktat Hefezellen nachzuweisen und die Hefe auch in Reinkultur aus dem Punktat zu züchten. Da die Patientin außerdem an einer soorartigen Erkrankung des Rachens litt, die durch Hefe bewirkt war, so lag die Vermutung nahe, daß diese Rachenerkrankung als der primäre Erkrankungsherd aufzufassen sei. Die Autopsie lieferte die vollkommene Bestätigung für diese Annahme. Im Rachen konnten die Hefezellen bis tief in die Muskulatur, mit fibrinösem Exsudat gemischt, nachgewiesen werden. Makroskopisch zeigte sich an dem Gehirn hochgradiges Hirnödem mit starkem inneren und äußeren Hydrocephalus, geringe Trübung und geringe entzündliche Reaktion der Meningen, keine Tuberkeleruptionen. Türk nimmt an, daß von dem Herde im Rachen aus die Infektion der Blutbahn und die weitere Lokalisation in den Meningen erfolgte. Die histologischen und bakteriologischen Untersuchungen über die Beobachtung liegen noch nicht abgeschlossen vor; diese lehrt aber, wie sehr wir Veranlassung haben, der ätiologischen Bedeutung der Blastomyceten für Erkrankungsprozesse beim Menschen unsere vollste Aufmerksamkeit zu schenken.

Damit glaube ich die pathologischen Prozesse berührt zu haben, bei denen pathogene Hefen beim Menschen beobachtet worden sind, soweit die Literatur Angaben darüber enthält. Außer Baumgartens Jahresbericht habe ich die Literaturzusammenstellungen von Sternberg (Zieglers Beitr. z. patholog. Anat. Bd. XXXII. 1902) und Buschke (Referat im Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXVIII u. LXXIX. 1903) benutzt.

Für die Frage nach der Bedeutung pathogener Hefen für den menschlichen Organismus kommen die sonstigen Funde von Hefen im menschlichen Körper — ich erwähne die Beobachtung von Hefen in dem Urin Diabetischer (Senator, Guillard, Dumenil, Ernst) und in den Faeces bei einem Falle von infektiösem Ikterus (Lommel) — nicht in Betracht, da ihre krankheitserregende Wirkung nicht außer allem Zweifel steht.

Ich übergehe auch die Befunde von Hefen bei Angina, die von Achalme und Troisier, de Simonis u. A. erhoben worden sind, da die Autoren selbst den gefundenen Hefen eine ätiologische Bedeutung für den Krankheitsprozeß absprechen, und registriere nur den überaus häufigen Befund von Hefen in dem Sputum Tuberkulöser, dem nach

meinem Dafürhalten eine größere Beachtung geschenkt werden müßte (cf. v. Hansemanns Fall).

Unberücksichtigt habe ich auch die zahlreichen tierpathogenen Hefen gelassen, die bei verschiedenartigen malignen Tumoren bekanntlich gezüchtet worden sind, da es mir für den Zweck meiner Darlegungen nur darauf ankam, einleitend einen Ueberblick über diejenigen krankhaften organischen Prozesse zu geben, bei denen Blastomyceten isoliert werden konnten, von denen die einen unzweifelhaft mit der Entstehung der krankhaften Veränderungen in Zusammenhang gebracht werden mußten, für andere dagegen die ätiologische Bedeutung etwas fraglich ist.

Die Auslese ist spärlich und angesichts der Tatsache, daß die Frage nach der pathogenetischen Bedeutung der Blastomyceten für den Menschen sicherlich noch nicht erschöpfend behandelt worden ist, daß demnach weitere Mitteilungen über einschlägige Befunde immer noch einiges Interesse zu erwecken berufen sind, möchte ich in folgendem von einem Befunde, den ich bei einem klinisch als Diphtherie aufgefaßten Prozesse erheben konnte, berichten. Es gelang mir nämlich, aus einer durch Tracheotomie gewonnenen Trachealmembran eine Hefeart zu isolieren, die sich als höchst pathogen für die gewöhnlichen Laboratoriumstiere erwies.

B. Krankheitsgeschichte.

Schon Busse hat (die erwähnte Monographie p. 85) dem Gedanken Ausdruck gegeben, daß die auf den verschiedenen Schleimhäuten nachgewiesenen Hefen von der Oberfläche der Mucosa einwandern und nun ihre krankheitserregende Wirkung entfalten. Die von mir gemachte Beobachtung scheint mir eine Bestätigung für die Richtigkeit dieser Anschauung zu liefern.

Die von mir isolierte Hefe, die ein in verschiedener Beziehung von den bisher beschriebenen tierpathogenen Saccharomyceten abweichendes Verhalten zeigte, gewann ich, wie erwähnt, aus einer Trachealmembran. Nach der mir gütigst zur Verfügung gestellten Krankengeschichte handelte es sich um ein an Scarlatina erkranktes Kind, das am 5. Krankheitstage krupartige Erscheinungen darbot und zu gleicher Zeit erhebliche Drüsenschwellungen zu beiden Seiten des Halses zeigte. Bei der vorgenommenen tiefen Gewebsspaltung stieß man rechts innerhalb der Drüsenpakete nur auf nekrotisches Gewebe, das einen fötiden Geruch verbreitete. Eiter entleerte sich bei der Incision nicht. Eine auf der linken Halsseite vorgenommene Incision bewirkte Abfluß einer reichlichen Menge rein gelben Eiters. Am 21. Krankheitstage mußte wegen bedrohlicher Dyspnoë und starker inspiratorischer Einziehungen die Tracheotomie ausgeführt werden, nachdem die Stenoseerscheinungen in den letzten Tagen ständig erheblicher geworden waren. Das Kind hustete nach der Operation einige zähe Massen aus. Instrumentell wurden dann unter aseptischen Kautelen aus der Trachea einige feste, derbe Membranstücke entfernt. Danach erst wurde die Atmung frei und ruhig. Am Tage nach der Operation erfolgte der Exitus letalis. Während der letzten Tage hatte die Temperatur zwischen 39,5° und 41° C geschwankt. Zweimalige Injektion von je 1000 I.-E. Diphtherieheilserum Behring waren ohne Erfolg gewesen.

Gleich nach der Tracheotomie, die am 5. Jan. 1905 vorgenommen wurde, erhielt das bakteriologische Institut die bei der Operation extrahierte Membran zugesandt mit der Aufforderung, eine Untersuchung auf Diphtheriebacillen anzustellen. Von dem Kollegen, der die Operation

vorgenommen hatte, wurde gleichzeitig die Mitteilung gemacht, daß ihm die zähe Konsistenz und die eigenartige gelbe Farbe der Membran, die von der bei der echten Diphtherie gewöhnlich vorhandenen graugelben deutlich abwich, bei der Operation sofort aufgefallen sei.

Ich legte eine Loeffler-Blutserumplatte an. Als ich nach 16 Stunden zur Untersuchung der gewachsenen Kolonieen schritt, waren auf der Platte große, etwas glänzende, runde, ganz leicht gelb tingierte Kolonieen gewachsen. Die mikroskopische Untersuchung ergab zu meiner größten Ueberraschung eine Reinkultur von Hefe. Kolonieen anderer Bakterien waren nicht zur Entwickelung gekommen.

Es lag nun zunächst der Gedanke an eine Verunreinigung nahe. Der Zufall fügte es aber, daß ich die großen Membranstücke, die auch mir durch ihr speckig-gelbes Aussehen, ihre glänzend glatte Oberfläche und ihre äußerst derbe Konsistenz aufgefallen waren, aufbewahrt hatte. Ich versuchte zunächst eine Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung zu machen. In dem Zentrifugat der Aufschwemmung gelang der Nachweis von Hefezellen. Indes, auch dadurch war eine Verunreinigung noch nicht ausgeschlossen. Die Fixierung der Membran mit nachfolgender Härtung und Einbettung ergab nun, daß die Hefezellen in überaus reichlichem Maße an dem Aufbau der Membran beteiligt waren, ja überwiegend dieselbe mit Fibrin zusammensetzten. Damit glaubte ich den Beweis erbracht zu haben, daß die isolierte Hefe zum mindesten an dem Aufbau der Trachealmembran beteiligt sei, wenn sie nicht gar als der Erreger des ganzen Prozesses aufgefaßt werden konnte.

Wenn auch die Meinung vertreten wird, so vor allem von Baumgarten, daß viele der bisher beschriebenen Beobachtungen über die pathogenetische Bedeutung von Blastomyceten einer Kritik nicht standhalten, so neige ich doch hinsichtlich meines Befundes der Meinung zu, daß die beiden Tatsachen, Wachstum einer Reinkultur des Blastomyceten nach direktem Ausstrich der Membran auf Loeffler-Serum und innige Beteiligung der Hefezellen an dem Aufbau der Membran, nur in dem Sinne gedeutet werden können, daß der Organismus in ursächlichem Zusammenhang mit der Bildung der Membran in der Trachea steht. Der Befund hat also eine große Aehnlichkeit mit dem von Brazzola erhobenen (cf. oben).

Diese gewiß interessante Beobachtung gab mir nun Veranlassung, die isolierte Hefe weiter zu verfolgen. Leider ist der Eiter aus den Lymphdrüsenabscessen nicht zur bakteriologischen Untersuchung gelangt und auch die Sektion der kleinen Patientin nicht vorgenommen worden, so daß ich nicht festzustellen vermochte, ob in den inneren Organen die Hefe ebenfalls zur Ansiedelung gekommen war.

Die Frage, auf welche Weise der Infektionserreger in die oberen Luftwege gelangt ist, wird nicht leicht zu beantworten sein. Immerhin könnte man im Anschluß an den Nachweis einer tierpathogenen Hefe in Milch durch Klein den Gedanken nicht ganz von der Hand weisen, daß ein Nahrungsmittel als Träger der Infektion in Betracht käme.

C. Die Eigenschaften der isolierten Hefe.

I. Morphologie der Hefe.

Die Hefezellen sind gewöhnlich kreisrund und entsprechen in den meisten Exemplaren der Größe eines roten Blutkörperchens. Einzelne Zellen sind größer. Wenn die Zellen sich zur Sprossung anschicken,

nehmen sie zuweilen eine birnen- oder keulenförmige Gestalt an; der eine Teil der Zelle bleibt breit, während der andere sich zuspitzt. Dann schnürt sich das zugespitzte Ende ab. An anderen Exemplaren treten in der gewöhnlichen Weise an irgend einer Stelle der Peripherie der Zelle knopfförmige Vorsprünge auf, die sich weiterhin ganz abschnüren.

In frischen Präparaten zeigen die Hefezellen im hängenden Tropfen einen scharfen doppelten Kontur. Nach innen davon liegt feingekörntes Protoplasma. Außerdem lagern 1—2, in verschiedenen, namentlich den größeren Exemplaren, auch mehrere kleine, lichtbrechende Körperchen in den Zellen.

Die Hefe färbt sich sehr leicht mit allen Anilinfarben. Sehr schöne Bilder liefert die Neissersche Färbung mit essigsaurem Methylenblau und Vesuvin.

Mit Hilfe der Färbung nach Möller gelingt die Darstellung von Kernen.

Die in Kulturen frisch gezüchtete Hefe zeigt keine Kapseln. Dagegen erhält man sehr schöne Kapseln bei frischen Ausstrichen aus den Organen infizierter Tiere. Die Kapsel umgibt bei den verschiedenen Färbemethoden, von denen namentlich die Gram-Safraninfärbung sehr schöne Resultate zeitigte, bald als schmaler, bald als breiterer Saum jede einzelne Zelle. Auf mehreren, z. B. 3 Monate alten Bierwürzeagarkulturen ließ sich später auch Kapselbildung an vielen Exemplaren beobachten. Vor allem aber tritt sie in den Schnittpräparaten infizierter Organe in außerordentlich deutlicher Weise zu Gesicht. Es deckt sich also dieses Verhalten der von mir isolierten Hefe mit dem der von Busse beschriebenen Hefeart, die ebenfalls auf allen Kulturen Kapseln bildete. Niemals dagegen sah ich konzentrisch geschichtete Kapseln, wie sie Busse in seinen verschiedenen Arbeiten abgebildet hat.

Die Hefe vermehrt sich durch Sprossung, wie man im hängenden Tropfen mit Hilfe des heizbaren Objekttisches gut verfolgen kann. Sporenbildung erfolgt nicht.

II. Kulturelle Eigenschaften.

Die Hefe wächst auf allen Nährböden gut, bevorzugt aber wie auch die anderen beschriebenen Species unzweifelhaft saure Nährböden.

Am üppigsten gedeiht sie auf 3-proz. Bierwürzeagar. Auf schräg erstarrtem Agar entwickeln sich schon nach 12 Stunden blendend weiße, saftige, runde Kolonieen; allmählich überziehen diese konfluierend in Form eines üppigen Rasens die ganze Agarfläche. Später tritt eine geringe Braunfärbung der Kultur ein, die daneben einzelne leistenförmige Hervorragungen über das allgemeine Niveau aufweist. Im einzelnen verhält sich die Hefe auf den verschiedenen Nährböden wie folgt:

1) Loefflers Blutserumplatte: Saftige, runde, leicht gelb gefärbte, konsistente Kolonieen.

2) Peptonbouillon: Ganz feinkörnige Suspension in der ganzen Flüssigkeitssäule mit einem zarten körnigen Niederschlag an der Wand des Reagenzglases. Kein Bodensatz, keine Kahmhaut. Später flockiger Bodensatz.

3) Gelatinestrich: Saftiger, blendend weißer Belag.

4) Gelatinestich: Wachstum den ganzen Stich entlang in Form feiner, rundlicher, isolierter Kolonieen. Knopf: Begrenztes Flächenwachstum um den Stichkanal.

5) Gelatineplatte: Rundliche, weiße, glänzende Kolonieen, bei durch-

fallendem Lichte (60-fache Vergr.) schwarz, feingekörnt, bei auffallendem Lichte hellglänzend wie Fett.

6) Agar-Agarstrich, -stich und -platte wie bei Gelatine.

7) Dextroseagar: Gasbildung; desgl. in Dextrosebouillon.

8) Mannit-, Milchzucker-, Rohr- und Malzzuckeragar und -bouillon: Keine Gasbildung.

9) Kartoffel: Trockener, grauweißer Belag aus konfluierenden, runden Kolonieen gebildet; der Belag wächst nicht über den Impfstrich hinaus.

III. Chemische Eigenschaften.

Die Hefe vergärt Traubenzucker. Die chemische Untersuchung der bei der Gärung gelieferten Stoffwechselprodukte ist zur Zeit noch nicht abgeschlossen; das Resultat soll später publiziert werden.

D. Vergleich mit den bekannteren tierpathogenen Hefen.

Es fragte sich nun nach Feststellung des morphologischen, kulturellen und chemischen Verhaltens des isolierten Blastomyceten, ob dieses sich mit den Eigenschaften der wichtigeren beschriebenen menschen- oder tierpathogenen Hefen deckte. Zum Vergleiche zog ich den Saccharomyces Busse, Curtis, Lundsgaard und Klein heran, den letzteren deshalb, weil er, wie die späteren Ausführungen zeigen werden, bei Infektion von Kaninchen ein ähnliches Krankheitsbild wie der von mir isolierte Blastomycet erzeugt. Außerdem standen mir von anderen tierpathogenen Hefen noch die Stämme Sanfelice (S. neoformans, von Král bezogen), Plimmer und Leopold zur Verfügung.

Die angefügte Zusammenstellung belehrt über die einzelnen Unterschiede der miteinander verglichenen Hefearten. Aus ihr ergibt sich, daß hinsichtlich des morphologischen Verhaltens keine tiefgreifenden Unterschiede bestehen, daß dagegen bereits hinsichtlich des kulturellen Verhaltens auf den verschiedenen Nährböden deutlich Differenzen zu Tage treten. Das betrifft das Wachstum auf Bierwürzeagar, in Gelatine, Agar-Agar, alkalischer Bouillon, vor allen Dingen aber auf Kartoffel und in Milch, schließlich das Verhalten gegen Traubenzucker.

Wenn damit schon nahegelegt war, daß ich mit der von mir gewonnenen Hefe eine neue Varietät vor mir hatte, so wurde diese Ansicht noch besonders gestützt durch die angestellten Tierversuche.

E. Tierversuche.

Zu den Versuchen standen mir weiße Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen zur Verfügung. Es kamen sämtliche Infektionsmodi zur Anwendung, die endermatische Einreibung nach Skarifikation der Haut, die subkutane, intravenöse und intraabdominale Injektion. Alle 3 Tierarten erwiesen sich völlig unempfänglich gegen die endermatische Einreibung von Kulturaufschwemmungen nach voraufgegangener Skarifikation der Haut, empfänglich hingegen für die intraabdominale Infektion. Bei Meerschweinchen und Kaninchen bewirkte auch die subkutane Injektion pathologische Veränderungen, bei Kaninchen gelang schließlich mit regelmäßigem Erfolg die intravenöse Infektion.

Es ist außerdem von Interesse, daß Kaninchen nach Zufuhr von Hefen per os nach einigen Tagen einer schweren Allgemeininfektion erlagen.

Tabellarische Uebersicht über das kulturelle Verhalten wichtiger Blastomyceten.

Nährboden	Busse	Curtis	Sanfelice (S. neoformans Král)	Klein	Leopold	Plimmer	Lundsgaard	Steinhaus
1) Bierwürzeagarstrich	Brauner, saftiger, gleichmäßiger Belag	Sehr saftiger, brauner, zerfließlicher, glatter Belag	Ueppiger, trockener Belag, Zentrum braun, Peripherie grauweiß, Rand blattförmig begrenzt	Braungelber, etwas trockener Belag mit senkrecht zur Achse stehenden linienförmigen Fältelungen	Grauweiße Kolonieen, die konfluierend einen weinblattförmig begrenzten Belag bilden	Zusammenhängender, graubrauner, saftiger Belag	Zusammenhängender, grauweißer, blattförmig begrenzter Belag	Saftiger, speckig gelber Belag, Oberfläche wellig
2) Bierwürzeagarplatte	Saftige, graubraune, runde Kolonieen, Mitte knopfförmig erhaben, Rand abgeflacht	Sehr saftige, braune Kolonieen, rund	Gelbbraune, runde, trockene Kolonieen, Zentrum knopfförmig vorgewölbt, Rand scheibenförmig abgeflacht	Braungelbe, trockene, runde Kolonieen, Zentrum knopfförmig, Rand abgeflacht	Zarte, graue, tautropfenähnliche, runde, kleine Kolonieen	Graubraune, trockene, runde Kolonieen, Zentrum knopfförmig vorgewölbt, Rand flach	Zarte, grauweiße, runde, tautropfenähnliche, kleine Kolonieen	Große, gelbe, runde, etwas trockene, flach ausgebreitete Kolonieen
3) alkalische Bouillon n. 48 Stdn.	Feinkörnige Suspension, keine Kahmhaut	Flüssigkeitssäule klar, feinfädiger Bodensatz, keine Kahmhaut	Körniger Niederschlag am Glase, körniger Bodensatz, Kahmhaut	Flüssigkeitssäule klar, feinfädiger Bodensatz, keine Kahmhaut	Grobkörniger Bodensatz, Flüssigkeitssäule klar, keine Kahmhaut	Flüssigkeitssäule klar, körniger Niederschlag am Glase, körniger Bodensatz, Kahmhaut	Flüssigkeitssäule klar, fädiger Bodensatz, keine Kahmhaut	Feinkörnige Suspension, in der Flüssigkeit gleicher Randniederschlag, flockiger Bodensatz, keine Kahmhaut
4) Dextrosebouillon	Gasbildung	Gasbildung	Keine Gasbildung	Keine Gasbildung	Keine Gasbildung	Keine Gasbildung	Keine Gasbildung	Gasbildung
5) Lackmusmolke	Starke Alkalibildung, feinkörnige Suspension, keine Kahmhaut	Spur Alkalibildung, Flüssigkeitssäule klar, fädiger Bodensatz, keine Kahmhaut	Starke Alkalibildung, Flüssigkeitssäule klar, fädiger Bodensatz, keine Kahmhaut	Starke Alkalibildung, fädiger Bodensatz, Flüssigkeitssäule klar, keine Kahmhaut	Spur Alkalibildung, Flüssigkeitssäule klar, fädiger Bodensatz, keine Kahmhaut	Starke Alkalibildung, feinkörnige Suspension, fädiger Bodensatz, keine Kahmhaut	Amphotere Reaktion, Flüssigkeitssäule klar, fädiger Bodensatz, keine Kahmhaut	Geringe Alkalibildung, flockiger Bodensatz, keine Kahmhaut

6) Gelatinestrich	Weißlicher Belag, aus einzelnen Kolonieen zusammenfließend	Wie Busse, der Belag ist aber sehr zerfließlich	Wie Busse	do.	do.	do.	do.	do.
7) Gelatinestich	Weißer, runder Knopf, Wachstum den Stich entlang in Form kleiner, rundlicher Kolonieen	Weißer, weinblattförmig gelappter Knopf, sonst wie Busse	Oberfl.: Flache, gelappte Scheibe, sonst wie Busse	Oberfl.: Gelappter, weißer Knopf, sonst wie Busse	Wachstum wie bei Saccharomyces Klein	do.	Wachstum wie bei Saccharomyces Busse	Oberfl.: Gelappter, weißer Knopf, längs des Stichkanals kleine, runde Kolonieen, von diesen ausgehend seitliche, faserige, wurzelförmige Fortsätze
8) Gelatineplatte	Grauweiße, saftige Kolonieen, Zentrum mehr weiß, Rand grau	Kleine, runde, gelblich-weiße Kolonieen, zerfließlich, Zentrum knopfförmig vorgebuchtet	Runde, grauweiße Kolonieen, etwas trocken, Zentrum knopfförmig vorgebuchtet	Grauweiße, saftige Kolonieen, Zentrum mehr weiß, Rand grau	Kleine, runde, grauweiße Kolonieen	Wachstum wie bei Saccharomyces Leopold	Wachstum wie bei Saccharomyces Leopold	Wachstum wie bei Saccharomyces Leopold
9) Agar-Agarstrich	Ueppiger, brauner Belag	Zerfließlicher, brauner Belag	Brauner, trockener Belag	Brauner, etwas trockener Belag	Weißer, trockener Belag	Graubräunlicher Belag	Blendend weißer Belag	Grauweißlicher Belag
10) Agar-Agarstich	Oberfl.: Bräunlich, gelappt	Oberfl.: Graubraun, rund, zerfließlich	Oberfl.: Grauweiß, runder Knopf	Oberfl.: Zarte, graue, flache Scheibe	Oberfl.: Kleiner, runder, grauweißer Knopf	Oberfl.: Grauweißer, runder Knopf	Oberfl.: Blendend weiß, gelappte Scheibe	Oberfl.: Flache, graue, gelappte Scheibe
11) Agar-Agarplatte	Runde, saftige, gelbgraue Kolonieen	Runde, saftige, graubraune Kolonieen	Kleine, runde, saftige, graue Kolonieen	Runde, trockene, glanzlose, gelbe, flache Kolonieen	Kleine, knopfförmige, grauweiße Kolonieen	Kleine, runde, saftige, bräunliche Kolonieen	Runde, grauweiße, knopfförmige Kolonieen	Glänzende, grauweiße, knopfförmige Kolonieen
12) Kartoffel	Saftiger, leicht brauner Belag	Sehr üppiger, graugelblicher Belag	Brauner Belag, Mitte später grün	Tiefbrauner, üppiger Belag	Blendend weißer Belag	Brauner, saftiger Belag	Ueppiger, grauweißer Rasen	Trockner, weißer Belag
13) Milch	Dünnflüssiger u. gelblich gefärbt, etwas aufgehellt	Wie S. Busse	Wie S. Busse	Wie S. Busse	Unverändert	Wie S. Busse	Wie S. Busse	Nach 10 Tagen geronnen, stark alkalisch

Die Versuche wurden einheitlich in der Weise angestellt, daß 1 Normalöse einer 48-stündigen Agarkultur in Form einer Aufschwemmung in 2 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung den Tieren einverleibt wurde. Nur bei den Fütterungsversuchen kamen größere Mengen, auf Brotstückchen verteilt, zur Anwendung.

I. Mäuse.

Nach der subkutanen Injektion unter die Rückenhaut bildete sich lediglich im Laufe der nächsten Tage von der Injektionsstelle ausgehend ein derbes Infiltrat. Eine Allgemeininfektion trat nicht ein.

Bei intraperitonealer Injektion erlagen die Tiere nach 24 Stunden der Infektion, während deren Verlauf eine deutliche Aenderung der Atmung sichtbar wurde. Die einzelnen Atemzüge wurden tiefer und dabei langsamer.

Makroskopisch zeigten die Organe der verendeten Tiere eine auffallende Hyperämie, dagegen keine herdförmigen Veränderungen, die sich bei dem raschen letalen Ausgang auch nicht entwickeln konnten.

Mikroskopisch ließ sich neben der starken Hyperämie in sämtlichen Organen im einzelnen noch folgendes nachweisen.

In der Milz waren die Follikel geschwollen; in ihren Randpartieen lagen reichlich Hefezellen.

In der Lunge führen die Blutgefäße reichlich Leukocyten und vereinzelte Hefezellen; die Alveolarwandungen sind mit polynukleären Leukocyten infiltriert. Auch in den Kapillaren gelingt der Nachweis von Hefezellen.

Zerstreute perivaskuläre Herdchen finden sich in den Nieren; in den Herdchen lagern Hefezellen, die an verschiedenen Stellen mit den Leukocyten aus den Gefäßen auswandern. Vereinzelte Hefezellen finden sich auch in den Glomerulusschlingen und im Lumen der Tubuli contorti I. ordin.

Das Lebergewebe ist durchsetzt von kleinen Häufchen polynukleärer Leukocyten. In den Blutgefäß- und Gallengangskapillaren liegen vereinzelte Hefezellen.

Es mag an dieser Stelle bereits erwähnt werden, daß die einzelnen Hefezellen mit einer deutlichen Kapsel umgeben sind, die aber nicht geschichtet ist.

Angesichts des geschilderten Befundes ist man meines Erachtens berechtigt, den von Busse eingeführten Begriff der Verhefung der Organe in Anwendung zu bringen.

II. Meerschweinchen.

Während also mit der oben erwähnten Menge von Kulturmaterial weiße Mäuse bereits nach 24 Stunden der intraabdominalen Infektion erlagen, führte bei Meerschweinchen derselbe Infektionsmodus erst nach mehreren — durchschnittlich 8—12 Tagen — zum Tode der Tiere. Es ließ sich bei diesen Versuchen feststellen, daß die Infektion mit einer deutlichen Temperatursteigerung verbunden war, wie z. B. die nachstehend mitgeteilte Temperaturtabelle lehrt.

Während des Lebens zeigten die Tiere eine auffallende Hinfälligkeit. Weiterhin machte sich in ähnlicher Weise wie bei den Mäusen eine Erschwerung der Atmung bemerkbar. Sonstige Krankheitserscheinungen traten nicht zu Tage.



Versuch III. Injektion von 1 Normalöse einer 48-stündigen Agarkultur, aufgeschwemmt in 2 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung, intraabdominal am 20. Jan. 1905.

Bei der Sektion ergab sich zunächst eine Peritonitis. Das Peritoneum parietale und viscerale war hochrot und injiziert. Von ihm ließ sich ein grauer, fadenziehender Belag abheben, der an verschiedenen Stellen in wechselnder Ausdehnung das Bauchfell überzog. Außerdem fanden sich im Peritoneum regelmäßig zahllose, miliaren Tuberkeleruptionen ähnliche Knötchen von gelblich-grauer Farbe, während die Leber und die stark geschwollene Milz makroskopisch keine herdförmigen Veränderungen erkennen ließen. In den Lungen kamen unregelmäßig begrenzte, bronchopneumonischen Herden ähnliche Infiltrate zu stande, von denen viele neben einem gelblich-grauen Zentrum einen deutlichen hämorrhagischen Hof aufwiesen.

Mikroskopisch zeigten die Lungen zunächst eine diffuse, über die ganzen Schnitte ausgebreitete Hyperämie; namentlich die Kapillaren waren strotzend gefüllt und geschlängelt. Die erwähnten Herde besaßen in Zentrum und Peripherie entsprechend dem makroskopischen Bilde eine verschiedene Zusammensetzung. In der Mitte waren die Alveolen ausgefüllt mit poly- und mononukleären Leukocyten; die Epithelien waren desquamiert; Fibrin war nicht ausgeschieden. Die Alveolen in der Peripherie waren ganz angefüllt mit roten Blutkörperchen. Daneben ließ sich eine Vergrößerung der peribronchialen und perivaskulären Lymphknötchen feststellen.

Die Hefezellen fanden sich in größeren Mengen innerhalb der Alveolen und ließen sich außerdem in den Kapillaren nachweisen.

Die Leber zeigte mikroskopisch außer einer körnigen Degeneration der Parenchymzellen und einer auffallenden Hyperämie keine wesentlichen Veränderungen. Mittels der Färbemethoden von Busse und Sanfelice ließen sich die Hefezellen dicht an der Wand der kleineren Blutgefäße, teils auch in den Blutgefäßkapillaren und zwischen den Leberzellen deutlich erkennen.

Die Follikel der Milz waren geschwollen, in ihren Randpartieen lag viel Blutpigment. Die Kapillaren waren strotzend gefüllt. Das ganze Gewebe, besonders aber die Peripherie der Follikel, war mit Hefen überschwemmt, die deutliche Kapsel zeigten.

Am Peritoneum waren teils kleine Knötchen zur Entwickelung gekommen, die aus Leukocyten bestehen, teils zusammenhängende Beläge, die sich aus geschichtetem Fibrin zusammensetzen.

Bei der subkutanen Einverleibung der mehrfach erwähnten Kulturmenge bildete sich lediglich an der Injektionsstelle ein derbes Infiltrat aus, das nach erfolgter Incision sich als ein gelblich gefärbter, tumorartig gestalteter, unregelmäßig begrenzter Herd präsentierte. Eine

Allgemeininfektion trat bei diesem Infektionsmodus nicht ein. Mikroskopisch stellte sich das Infiltrat als ein absceßartiges Gebilde dar; es bestand fast nur aus polynukleären Leukocyten, zwischen denen vereinzelte Lymphocyten und massenhaft Hefezellen lagern.

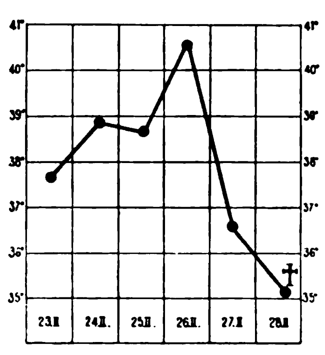
III. Kaninchen.

Wesentlich anders wie weiße Mäuse und Meerschweinchen verhielten sich Kaninchen gegenüber der Infektion. Es ergab sich, daß die Tiere sowohl nach intraperitonealer wie intravenöser Injektion als auch nach Fütterung mit Kulturaufschwemmungen unter ganz eigenartigen Erscheinungen erkrankten. Die Hefe erwies sich als äußerst virulent für Kaninchen, was daraus geschlossen werden kann, daß die Tiere durchschnittlich — stets mit der gleichen mehrfach erwähnten Kulturmenge geimpft — nach 6 Tagen der Infektion erlagen.

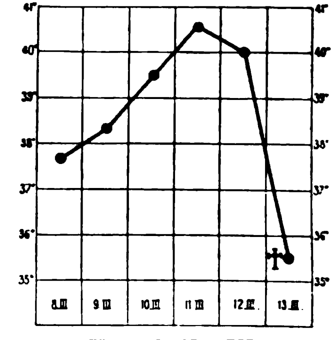
Nach anfänglicher Temperatursteigerung stellten sich gewöhnlich am 3. Tage klonisch-tonische Zuckungen in den hinteren Extremitäten ein. Diese waren — gleichgültig, welcher Infektionsmodus gewählt war — gefolgt von einer spastischen Parese der Hinterläufe, die bald in eine Paralyse überging. Zugleich traten Durchfälle und incontinentia urinae in die Erscheinung. Die Tiere schleppten sich mit den vorderen Extremitäten ausschreitend anfänglich über den Boden hin, während die hinteren Gliedmaßen kaum gebeugt oder gestreckt werden konnten. War die Lähmung eine komplette geworden, so fielen sie, sobald man sie auf den Boden setzte, auf die Seite. Während der Ausbildung dieser Krankheitserscheinungen magerten die Tiere rapide und offensichtlich ab, wie auch durch Wägungen festgestellt wurde. Der Tod erfolgte regelmäßig unter excessivem Temperaturabfall im Kollaps, nachdem an den vorhergehenden Tagen die Atmung dieselbe Veränderung wie bei den Meerschweinchen gezeigt hatte; die Tiere atmeten schwer, schnappten geradezu nach Luft; die einzelnen Atemzüge waren sehr tief, ihre Zahl erheblich verlangsamt.

Bei einem Versuche beobachtete ich auch eine Lähmung der vorderen Extremitäten.

Die Infektion bewirkte auch bei den Kaninchen eine Temperatursteigerung, wie nachstehende Kurven lehren.



Versuch No. III.
Impfung am 23. Febr. 1905.



Versuch No. IV.
Impfung am 8. März 1905.

Was nun den Sektionsbefund anlangt, so ließen sich, genau wie bei den Meerschweinchen, in den Organen die kleinen, graugelblichen, miliaren

Knötchen nachweisen, mit denen die Organe so übersät waren, daß sie direkt das Bild der akuten Miliartuberkulose darboten. Im einzelnen fanden sich zunächst in den Lungen herdförmige pneumonische Infiltrate bald von geringer, bald von größerer Ausdehnung mit deutlichem hämorrhagischen Hof. Das Peritoneum war dicht besetzt mit kleinen Knötchen, desgleichen auch das parietale und viscerale Blatt des Pericards. Auch Leber, Milz und Niere zeigten die gleiche Veränderung. In der Niere fiel bei einzelnen Versuchen auf, daß die Knötchen in den Pyramiden in größerer Zahl zur Entwickelung gekommen waren!

Bei der Herausnahme des Gehirns sah man in der Pia mater zerstreute kleine Knötchen, desgleichen auch in der Rinde. Querschnitte durch das Rückenmark ergaben, daß auch innerhalb seiner Substanz vereinzelte miliare Eruptionen sich gebildet hatten; diese lagen in geringer Zahl verstreut durch das ganze Rückenmark hindurch, bald in der grauen, bald in der weißen Substanz.

Von besonderem Interesse waren die Fütterungsversuche. Aus erklärlichen Gründen gelangte eine größere Menge Kulturmaterials zur Verwendung (3—4 Oesen einer 24-stündigen Agarkultur), da es mir zunächst nur darauf ankam, festzustellen, ob überhaupt eine Infektion vom Darmkanal aus eintreten würde. Ich ließ die Tiere 24 Stunden lang hungern. Die erwähnte Kulturmenge wurde in 5 ccm Bouillon aufgeschwemmt und die Flüssigkeit dann auf Brotstückchen ausgegossen. Die Tiere fraßen das Brod begierig bis auf wenige Reste und erkrankten am 5. Tage nach der Infektion unter profusen Durchfällen, incontinentia urinae und den Erscheinungen einer spastischen Paralyse der hinteren Extremitäten, am 6.—7. Tage erfolgte der Exitus unter gleichzeitig bemerkbarem schweren Marasmus. Die klinischen Krankheitserscheinungen deckten sich also bei diesem Infektionsmodus vollkommen mit denen, die bei intravenöser Injektion beobachtet wurden.

Dasselbe trifft auch für die pathologisch-anatomischen Veränderungen in den Organen zu, nur waren die miliaren Eruptionen in der Schleimhaut des Magens und des Darmtractus etwas deutlicher zur Entwickelung gekommen.

Als ich nach der ersten Sektion bei einem verendeten Meerschweinchen die weitgehenden Veränderungen in den Nieren beobachtet hatte, lag der Gedanke nahe, dem Urin besondere Beachtung zu schenken. Es wurde deshalb bei den Versuchen an Kaninchen (weiblichen) mittelst Katheter der Urin steril aus der Harnblase entnommen. Mikroskopisch wimmelte es in den angefertigten Präparaten von Hefezellen, auf Biersäure- und Agar-Agarplatten konnte die Hefe in Reinkultur isoliert werden. Bei der chemischen Untersuchung gelang der Nachweis von Eiweiß in ziemlichen Mengen (sehr starke Trübung); Zucker wurde bei keinem Versuche gefunden; die Reaktion des Urins war stets schwach alkalisch. Diese Beobachtung des Auftretens von Hefezellen im Urin hatte ich bereits gemacht, ehe ich an das Studium der Literatur herangetreten war; ich war deshalb erfreut, zu lesen, daß auch Petersen und Exner in ihrer Arbeit diesen Befund registriert haben, der übrigens in den schönen anatomischen Veränderungen der Kaninchenniere einwandsfrei seine Erklärung findet.

Das geschilderte autoptische Bild bot sich immer dar, gleichviel, ob die Tiere intraperitoneal, intravenös oder per os infiziert waren.

Bei der subkutanen Injektion bildeten sich indes, genau wie bei den

Meerschweinchen, nur lokale Infiltrate aus, ohne daß es zu einer Allgemeininfektion kam.

Hinsichtlich des mikroskopischen Befundes in den einzelnen Organen verdienen wohl die Veränderungen in den Lungen an erster Stelle geschildert zu werden. Entsprechend dem makroskopischen Bilde einer lobulären, herdförmigen Pneumonie ist das Gewebe in sehr vielen Schnitten total hepatisiert. Die Alveolen sind ausgefüllt in den zentralen Partieen der Herde mit desquamierten Alveolarepithelien, vereinzelten Leukocyten und roten Blutkörperchen, schließlich massenhaften Hefezellen. Die Sanfelice-Färbung gibt außerordentlich schöne Bilder.

Um das so beschaffen Zentrum eines Herdes herum findet sich nun eine mehr minder breite Zone, in deren Bereiche die Alveolen total mit roten Blutkörperchen ausgefüllt sind, während sich daneben vereinzelte Hefezellen finden. Es handelt sich also um eine zonuläre Hämorrhagie. Fibrin konnte ich in den pneumonischen Infiltraten und auch im Bereiche der Hämorrhagien niemals nachweisen.

Die Alveolarwandungen sind in den nicht hepatisierten Partieen verbreitert, die Kapillaren sehr hyperämisch, reichlich mit polynukleären Leukocyten durchsetzt; außerdem lassen sich in den Kapillaren Hefezellen nachweisen. An vielen Stellen erkennt man deutlich, wie die Blastomyceten aus den Kapillaren in das Gewebe der Alveolarwand austreten und von dort aus in die Alveolen einwandern.

Beide Lungen sind ganz gleichmäßig und in ganzer Ausdehnung von derartigen pneumonisch-hämorrhagischen Infiltrationen durchsetzt, zwischen denen etwas lufthaltiges Gewebe stehen geblieben ist.

Die Dyspnoë der Versuchstiere findet wohl in den so tiefgreifenden Veränderungen des Lungengewebes und der Beeinträchtigung der Atmungsfläche ungezwungen ihre Erklärung.

Im Rückenmark ließ sich eine Zerstörung der Achsencylinder mit erheblicher Quellung und Zerfall der Markscheiden nachweisen. Zwischen den Achsencylindern gelingt der Nachweis von vereinzelten Hefezellen. Diese Veränderungen erstrecken sich gleichmäßig über sämtliche Bahnen. Die graue Substanz zeigt einen Zerfall vieler Ganglienzellen, die ganz körnig aussehen. Außerdem finden sich im Bereiche der Vorder- und Hinterhörner kleine Hämorrhagien. Die Kapillaren sind strotzend gefüllt. Da, wo in den Schnitten eins der beschriebenen miliaren Knötchen getroffen ist, handelt es sich um eine Ansammlung von polynukleären Leukocyten, zwischen denen die Hefezellen reichlicher lagern.

Die in der Rinden- und Marksubstanz des Gehirns zur Entwickelung gelangten Herdchen stellen dichte Ansammlungen von polynukleären Leukocyten dar, die im einzelnen verschiedene Ausdehnung haben und ganz unregelmäßig begrenzt sind. Zwischen den Leukocyten lagern Hefezellen in großer Zahl. Die Ganglienzellen im Bereiche der Herde sind zerstört, in der Umgebung derselben zeigen sie Druckatrophie und ausgesprochene Körnelung des Protoplasmas.

In der Milz läßt sich mikroskopisch mit Hilfe der van Gieson-Färbung nur eine deutliche Schwellung der Follikel nachweisen, in deren Randpartieen viele polynukleäre Leukocyten lagern. Bei der Sanfelice-Färbung ergibt sich, daß die Randzone dicht mit Blastomyceten durchsetzt ist.

Die kleinen Herdchen in der Leber sind ebenfalls aus polynukleären Leukocyten und Hefezellen aufgebaut; die Herdchen lagern zumeist perivaskulär. Das Leberparenchym ist in der Umgebung der Infiltrate

nekrotisch; die einzelnen Zellbalken sind deutlich verschmälert. Im Gegensatz zu den Herden in den übrigen Organen beginnt in der Umgebung der Infiltrate bereits eine deutlich nachweisbare reaktive Wucherung der fixen Bindegewebszellen; in großer Zahl und von spindelförmiger Gestalt umgeben sie ringsum die kleinen Herde. In dem Zwischengewebe ist Blutpigment abgelagert. Die Kapillaren sind stark gefüllt, in ihnen zahlreiche Leukocyten nachweisbar.

Von besonderem Interesse sind die Veränderungen, die in den Nieren durch unsere Hefe gesetzt werden. Die Nieren bieten das Bild der miliaren Tuberkulose, die Herdchen sind aber in ganz überwiegender Zahl und in charakteristischer Weise entlang den Tubuli contorti II ord. zur Ausbildung gekommen. Die Harnkanälchen I. Ord. sind ganz intakt, das Epithel ist schön erhalten, das Zwischengewebe ohne Veränderungen. Auch an den Glomerulis ließ sich, abgesehen von einer geringen Vermehrung der Zellen, nichts wesentlich Abweichendes nachweisen. Dagegen sind die Harnkanälchen II. Ord. schwer erkrankt; ihr Epithel ist nekrotisiert, desquamiert, körnig zerfallen, in ihrem Lumen lagern hyaline Cylinder, teils reichlich weiße Blutkörperchen und auch Blutpigment. Zwischen ihnen finden sich herdförmige Ansammlungen von polynukleären Leukocyten, die dicht gedrängt liegen und zwischen sich reichliche Hefezellen aufweisen, die ihrerseits so zahlreich sind, daß man beinahe von einer in loco entstandenen Kolonie sprechen könnte; nach der Peripherie der Herde hin werden die Zellen spärlicher. Es läßt sich nun in den Schnitten sehr deutlich verfolgen, wie die Hefezellen von diesen Stellen aus die Membrana propria der Tubuli contorti II. ord. durchdringen und von da in das Lumen der Harnkanälchen gelangen.

Warum die Harnkanälchen II. Ordnung gerade die beschriebenen weitgehenden Veränderungen zeigen, ist mir nicht ganz klar geworden. Möglich ist es wohl, daß die Hefezellen in so großer Zahl angeschwemmt worden sind, daß sie bereits größere Gefäßchen thrombosiert haben, von denen aus nun die Entwickelung der Herde ihren Ausgang genommen hat. Für diese Annahme spricht die Beobachtung, daß die Herdchen stets perivaskulär lagern. Möglich wäre aber auch, daß die Spezifizität in der Funktion der einzelnen Nierenbestandteile verantwortlich zu machen wäre, die wir besonders durch die Arbeiten von Heidenhain und Ribbert kennen gelernt haben. Nach meinem Dafürhalten würde wohl die erstere Annahme die eigenartige Lokalisation der Veränderungen in den Nieren am ehesten plausibel machen.

Jedenfalls findet durch die beschriebenen Veränderungen das Auftreten von Eiweiß und von Hefezellen im Urin einwandsfrei seine Erklärung.

Hinsichtlich des Befundes an der Schleimhaut des Magens und Darms sowie am Pericard ist nichts Besonderes zuzufügen. Die Herdchen zeigten genau die gleiche Beschaffenheit wie in den übrigen Organen. Hervorzuheben wäre nur, daß die Einwanderung der Hefezellen ins Blut bei den Fütterungsversuchen durch Vermittelung der submukösen Lymphknötchen eingetreten zu sein scheint, die von Hefezellen durchsetzt waren. Es muß innerhalb der Knötchen ein Einbruch in die Gefäßbahn eingetreten sein, wenn man die geringere Wahrscheinlichkeit ausschließt, daß ihre Wanderung auf den Lymphwegen weiter erfolgt ist, wofür die erhobenen makroskopischen und mikroskopischen Befunde nicht sprechen.

Wenn ich kurz das Ergebnis dieser Studie resumiere, so handelt es sich also um eine neue tierpathogene Hefeart, die ich mit der Be-

zeichnung Saccharomyces membranogenes belegen möchte, da sie beim Menschen ein charakteristisches Krankheitsbild erzeugt hatte, eine derbe, feste Trachealmembran mit den klinischen Erscheinungen der Stenose.

Die Hefe erwies sich pathogen für weiße Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen bei intraperitonealer, für Kaninchen auch bei intravenöser und peroraler Infektion. Die Infektion war bei sämtlichen Tieren von schweren Krankheitserscheinungen begleitet. Das aus ihr resultierende anatomische Bild war das einer massenweisen Eruption von miliaren Knötchen in sämtlichen Organen. Bei den Meerschweinchen und Mäusen blieben Gehirn und Rückenmark frei von Veränderungen, während bei den Kaninchen sich deutliche Veränderungen in diesen Organen etablierten, die klinisch von eigenartigen Lähmungszuständen gefolgt waren.

Histologisch handelt es sich um eine lokale Ablagerung und Vermehrung von Hefezellen mit exsudativer Entzündung, die sich in starker Hyperämie der Organe, Vermehrung der Leukocyten in den Gefäßen und reichlicher Auswanderung derselben in das Gewebe äußert, das lokal zerstört wird. Nur in der Kaninchenleber ging die reaktive Entzündung noch weiter, insofern als eine Wucherung der Bindegewebszellen um die Herdchen herum festgestellt werden konnte. Im wesentlichen zeigten also die geschilderten anatomischen Veränderungen die Merkmale einer akuten Entzündung. Dabei ließ sich feststellen, daß in einigen Organen (z. B. Lunge, Rückenmark) sich zu den entzündlichen Veränderungen Hämorrhagieen hinzugesellten, so daß man berechtigt wäre, von einer akuten exsudativen hämorrhagischen Entzündung zu sprechen.

Hervorzuheben ist schließlich, daß niemals, außer am Peritonealüberzug der Bauchdecken Ausscheidung, von Fibrin beobachtet werden konnte.

Ich möchte auf den akut entzündlichen Charakter der durch den Saccharomyces membranogenes erzeugten anatomischen Läsionen besonderes Gewicht legen, da unser Blastomycet dadurch sich ebenfalls von vielen anderen beschriebenen tierpathogenen Hefen unterscheidet.

Hinsichtlich seines biologischen Verhaltens ließ sich ein weiterer Unterschied gegenüber den wesentlichen anderen tierpathogenen Hefen feststellen. Eventuelle Differenzen in Bezug auf das chemische Verhalten bedürfen noch der Aufklärung.

Während der Vornahme meiner Untersuchungen waren mir nur die Arbeiten von Busse, Curtis und Cohn bekannt. Ich glaubte daher anfänglich, die geschilderten bei den Kaninchen aufgetretenen Krankheitserscheinungen in dem Sinne deuten zu können, daß meine Hefe eine neue Art darstellte, zumal nach den von Cohn mit dem Saccharomyces Klein vorgenommenen Tierversuchen diese Hefe auch bei Meerschweinchen Lähmungen erzeugt hatte, ferner eine ausgesprochene Vorliebe für die Lokalisation im Zentralnervensystem zeigte, während die Eingeweideorgane intakt blieben, weil sie schließlich auch die charakteristische Eigenschaft darbot, nach intravenöser Injektion hämatogene Schleimhauterkrankungen zu erzeugen.

Da darnach die von mir isolierte Hefe von der Kleinschen Hefe wesentlich abwich, außerdem Busse und Curtis in ihren Arbeiten nichts von Lähmungen ihrer Versuchstiere berichtet hatten, so war die Annahme wohl berechtigt, daß die hier in Rede stehende Hefe ein besonderes Verhalten zeigte, das um so mehr interessieren mußte, als es sich um eine Hefe handelte, die beim Menschen eine ausgeprägte Krankheit erzeugt hatte.

Das genauere Literaturstudium belehrte mich indes, daß auch andere Hefen ein mindestens ähnliches, wenn nicht gar das gleiche klinische Bild hervorrufen können.

So berichten Petersen und Exner in ihrer Arbeit, daß mehrere der mit Saccharomyces Busse subkutan geimpften Mäuse sehr auffallende Symptome von Hirnerkrankung zeigten. Der Schädel schwoll deutlich an, „es traten Krämpfe, Lähmungen, Zwangsbewegungen etc. auf". Durch das ganze Hirn verstreut fanden sich kleinere und größere Haufen von Hefezellen.

Ferner gibt Sanfelice in einer seiner jüngsten Arbeiten (Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten, VI. Abhandl., Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XLIV. 1903) an, daß er bei den vergleichsweise angestellten Versuchen mit seinen Hefen (Saccharomyces neoformans, lithogenes und dem aus einem Adenocarcinom des Ovariums gezüchteten Blastomyceten) und der Hefe Plimmer bei Hunden nach intraperitonealer und intravenöser Injektion beobachtete, daß die Tiere beim Gehen schwankten, oft auf die Seite fielen und das Sehvermögen verloren. Es ist einleuchtend, daß diese klinischen Erscheinungen zu den anatomisch in Hirn und Rückenmark nachgewiesenen Veränderungen — Entwickelung von Hefeknötchen — in Beziehung stehen.

V. Jensen (Ist die Kleinsche Hefe eine besondere Art? diese Zeitschr. I. Abt. Bd. XXXVIII. 1. Heft) gibt ebenfalls an, daß er bei Infektionen mit Saccharomyces Busse Lähmungen der Versuchstiere beobachtet habe, desgleichen nach Injektion von Sanfelices Hefearten. Dahingegen zeigten zwei Kaninchen, die er mit Saccharomyces Klein intravenös geimpft hatte, keine Lähmungserscheinungen.

Es ist gegenüber diesen Beobachtungen und Mitteilungen unerklärlich, wie einmal Busse, der unzweifelhaft sehr exakte Versuche angestellt hat, in seinen Arbeiten an keiner Stelle von Lähmungen seiner Versuchstiere berichtet, während Petersen und Exner sowie Jensen bei entsprechenden Versuchen mit Saccharomyces Busse Lähmungen sahen, zum anderen Jensen bei Injektionen von Saccharomyces Klein bei zwei Kaninchen keine Lähmungen beobachtete, während der Entdecker der Hefe und auch Cohn es als eine charakteristische Wirkung dieses Blastomyceten bezeichnen, daß er Lähmungen bei Kaninchen erzeugt.

Cohn (Vergleich der Kleinschen Hefe mit anderen pathogenen Sproßpilzen, diese Zeitschr. Bd. XXXVI. Abt. I. Heft 3) sucht diese auffallende Tatsache mit Rasseeigentümlichkeiten der Versuchstiere an verschiedenen Orten und mit einer Aenderung der biologischen Eigenschaften der Hefen infolge jahrelanger Fortzüchtung auf Nährböden zu erklären. Ob aber diese Erklärungsversuche für so differente Resultate ausreichen, erscheint mir fraglich.

A priori ist nicht einzusehen, warum nicht jede tierpathogene Hefeart, dem Blutkreislaufe eines Versuchstieres mitgeteilt, Lähmungen erzeugen könnte. Man ist doch gezwungen, anzunehmen, daß die Hefen mit dem Blute in jedes Organ gelangen und hier ihre Wirkung zeitigen müßten. Sie gelangen in die Kapillaren, verstopfen diese entweder oder treten durch ihre Wandung hindurch und vermehren sich in dem angrenzenden Gewebe unter Bildung von kleinen Hefetumoren, die entweder nur aus Hefezellen aufgebaut oder auf eine Ansammlung von Leukocyten zurückzuführen sind, innerhalb deren die Hefezellen noch nachzuweisen sind, oder aus echtem Granulationsgewebe bestehen.

Meines Erachtens kann man hier mit vollem Rechte die akute Miliartuberkulose zum Vergleich heranziehen, da auch sie auf einen Einbruch der Tuberkelbacillen in die Blutbahn zurückzuführen ist. Gleichwie bei dieser ist auch die Invasion der Hefezellen in die Blutbahn von einer Allgemeininfektion mit massenhafter Eruption miliarer Knötchen gefolgt, und ebenso wie bei der akuten Miliartuberkulose das klinische Krankheitsbild ein sehr wechselndes sein kann, ebenso werden wir auch bei der Infektion unserer Versuchstiere mit pathogenen Hefen unter ganz gleichen Versuchsbedingungen des öfteren verschiedenartige Krankheitserscheinungen erwarten dürfen.

Dieses verschiedene Verhalten müssen wir unbedingt mit der Lokalisation der Krankheitserreger in den befallenen Organen in Zusammenhang bringen, so zu erklären versuchen, daß bei einer Ueberschwemmung des Blutes mit den Erregern, in unserem Falle mit Hefen, diese zwar in alle Organe hineingelangen, innerhalb dieser aber nicht auf sämtlichen Blutbahnen fortgelangen, manche Gefäße mit dem zugehörigen Kapillargebiete überschwemmen, in andere nur in geringer Zahl hineingelangen, wieder andere ganz frei lassen. Dabei kommt noch in Frage, daß die Hefen am Orte ihrer Lokalisation, zumal wenn sie nur in ganz vereinzelten Exemplaren in einem Kapillargebiete liegen bleiben, durch besondere Verhältnisse absterben können (Phagocytose etc).

Was insbesondere die Lokalisation der Hefen im Gehirn und Rückenmark anlangt, so kann man sich sehr wohl die Vorstellung machen, daß bei einer Infektion Keime in wichtige Zentren, z. B. das Bewegungszentrum oder in die Vorderhörner des Rückenmarks verschleppt werden und hier zu der Entstehung von Herden Veranlassung geben, die ihrerseits funktionelle Ausfallserscheinungen hervorrufen. In anderen Fällen ist die Lokalisation der Herde und damit auch die Summe der Krankheitserscheinungen eine andere.

Wenn man sich die Organe des Zentralnervensystems und auch die übrigen Organe genau von diesem Gesichtspunkte aus hinsichtlich der anatomischen Veränderungen ansieht, wird man in der Tat Anhaltspunkte dafür finden, daß der eben entwickelten Anschauung eine gewisse Berechtigung nicht abzusprechen ist.

So sah ich bei meinen Versuchen an Kaninchen einmal mehrere kleine Herdchen in der motorischen Region der Hirnrinde, bei einem anderen Versuche waren die kleinen Infiltrationen mehr in der Marksubstanz zur Entwickelung gekommen, während in den motorischen Centren trotz eifrigen Suchens keine entdeckt werden konnten. In wieder einem anderen Versuche ließen sich die Infiltrate in der Marksubstanz, daneben auch in der Wand der Seitenventrikel auffinden.

Besonders aber sprechen noch die Befunde an dem Rückenmark der infizierten Kaninchen für die Ansicht, daß die Lokalisation der Herde für die Entstehung des klinischen Bildes von einschneidender Bedeutung ist. Bei einem Versuche fanden sich einzelne Knötchen in verschiedener Höhe des Rückenmarks innerhalb des Bereiches der motorischen Bahnen, die Hinterhörner und Hinterstränge erwiesen sich trotz Anlegung einer sehr großen Zahl von Schnitten frei von Veränderungen; in einem anderen Versuche waren in der grauen Substanz der Vorderhörner keine Infiltrate zu entdecken, während sie genau in derselben Weise, wie Klein beschrieben hat, in den Hinterhörnern zu erkennen waren, wo sie so gelegen waren, daß sie die Vorderhörner komprimiert hatten.

Ebenso glaube ich, daß der oben erwähnte Versuch, bei dem ab-

weichend von den übrigen sich auch eine Paraplegie der Vorderläufe einstellte, in dem mehrfach berührten Sinne gedeutet werden kann.

Ich bin also, entgegen Cohn, mehr der Meinung, daß die Lokalisation der Hefeherde im Organismus, die außerordentlich wechseln kann, für die klinischen Erscheinungen nach der Infektion verantwortlich gemacht werden muß, jedenfalls aber die differenten Resultate derjenigen Forscher, die mit ein und derselben Hefe gearbeitet haben, erklärlicher macht als die Annahme von dem Einflusse der Rasseeigentümlichkeit der Versuchstiere und von der Bedeutung der jahrelangen Fortzüchtung auf Nährböden.

Noch eine Differenz bedarf hier der Erwähnung! Busse berichtet von seiner Hefe (cfr. Die Hefen als Krankheitserreger. Berlin 1897. p. 52), daß Meerschweinchen nur in Ausnahmefällen für die Infektion empfänglich waren. Von den Tierversuchen, die er mit dieser Tierart anstellte, nahmen die meisten den Ausgang, daß sich nach der Injektion von Schwemmkulturen nur vorübergehende entzündliche Veränderungen einstellten, die nicht den Tod der Tiere herbeiführten. Nur nach Implantation von Lungenstückchen einer mit Hefe infizierten Maus unter die Haut sah er bei einem Meerschweinchen, das der Infektion erlag, an der Injektionsstelle einen Absceß, längs der Wirbelsäule eine Anzahl kleinerer Infiltrationsherdchen. Auffallenderweise fanden sich aber die Hefen in größerer Menge in dem Knochenmark des Femur und der Tibia, während sie in den inneren Eingeweideorganen nur in geringer Menge anzutreffen waren (p. 52), ohne makroskopisch sichtbare Veränderungen hervorgerufen zu haben. In schroffem Gegensatze dazu stehen die Versuche von Sternberg (Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen, Zieglers Beiträge für pathol. Anatomie. Bd. XXXII. 1902), der die Meerschweinchen sehr empfindlich für Saccharomyces Busse fand.

Curtis berichtet, daß der von ihm entdeckte Saccharomyces subcutaneus tumefaciens für Meerschweinchen absolut keine pathogenen Eigenschaften besaß. Anna Stécksen (Autorreferat dieser Zeitschrift Bd. XXIX. p. 316), die Nachuntersuchungen mit dem genannten Blastomyceten angestellt hat, gelangt auf Grund ihrer Tierversuche zu ganz entgegengesetzten Resultaten: Saccharomyces Curtis erwies sich nach ihren Schilderungen als höchst pathogen für Meerschweinchen. Es entsteht nach subkutaner Injektion und endermatischer Einreibung das Bild einer typischen Blastomykose mit Ulcerationen in der Haut. Wenn Curtis selbst seine Hefe refraktär für Meerschweinchen findet und die genannte Autorin demselben Blastomyceten höchst pathogene Eigenschaften für dieselbe Tierart zuschreibt, so steht man hier vor einem vorläufig unlöslichen Widerspruch.

Und noch ein Drittes! In seiner Arbeit: Neue Untersuchungen über die Aetiologie der Geschwülste (diese Zeitschr. Abt. I. Originale Bd. XXXVI. 1904. No. 4) zieht Sanfelice das Facit, daß die wichtigsten der bis heute beschriebenen, für Menschen und Tiere krankheitserregenden Sproßhefen, was Morphologie und Wachstum auf Nährböden anlangt, gemeinsame Eigenschaften besitzen und daher mit Bestimmtheit in eine und dieselbe Gruppe zusammenzufassen sind, insbesondere meint er, daß der Saccharomyces hominis Busse mit dem Saccharomyces tumefaciens Curtis und dem von ihm entdeckten Saccharomyces neoformans identisch sei.

Jensen identifiziert ferner den Saccharomyces Klein mit dem

Saccharomyces neoformans Sanfelice sowohl wegen ihrer gemeinsamen kulturellen Eigentümlichkeiten wie auch hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Versuchstiere.

J. D. Weiß behauptet dagegen, daß die Hefen Klein und Plimmer, sowie die Stämme Sanfelices, Saccharomyces neoformans und ovar, einige ausgesprochene Unterschiede in kultureller Beziehung aufweisen.

Die Erfahrungen des letztgenannten Autors kann ich für meine Person bestätigen. Ich habe die von mir gefundene Hefe verglichen mit dem Saccharomyces Busse, Curtis, Plimmer, Leopold, Sanfelice (von Kràl als S. neoformans bezeichnet, bekanntlich aber nicht der echte Stamm), Lundsgaard und Klein und deutliche Unterschiede hinsichtlich des kulturellen Verhaltens auf den gebräuchlichen Nährböden nachweisen können; sie betrafen vornehmlich das Wachstum auf Kartoffeln, in Lackmusmolke, in Bouillon und auf Bierwürzeagar.

Ich bin ferner fest davon überzeugt, daß auch in Bezug auf die Erzeugung von Stoffwechselprodukten in zuckerhaltigen Nährböden wesentliche Unterschiede sich ergeben werden, die ja bereits von Saccharomyces Busse und Curtis bekannt sind.

Eins scheint mir an Hand der vorstehenden Darlegungen unabwendlich zu sein. Bei der großen Bedeutung, die die Sproßpilze für die menschliche Pathologie zu gewinnen anfangen, bei der großen Wichtigkeit der Frage, ob sie ätiologisch für die Geschwulstgenese in Frage kommen, bei dem großen Interesse schließlich, das diese Gruppe von Krankheitserregern an sich beanspruchen darf, müssen unter allen Umständen die oben skizzierten Differenzen meines Erachtens aufgeklärt werden. Die einzelnen Autoren, die sich mit der vorliegenden Frage beschäftigt haben, müssen durch gegenseitige Zusendung der Originalkulturen in eine wechselseitige Nachprüfung ihrer Experimente unter ganz gleichen und vorher genau vereinbarten Versuchsbedingungen eintreten. Nur so wird es möglich sein, die Verwirrung, die augenblicklich auf diesem Gebiete besteht, zu beseitigen, die Frage einheitlich zu lösen, ob die bis jetzt isolierten pathogenen Hefen zum großen Teile identisch sind oder Varietäten einer Art darstellen.

Es bleiben aber auch ohne diese einheitliche Untersuchung auch heute schon Differenzen genug, die ein Urteil dahin zulassen, daß die meisten der beschriebenen tierpathogenen Hefen nicht identisch sind.

Ich erinnere nur daran, daß Saccharomyces Klein nach intravenöser Injektion bei Kaninchen hämatogene Schleimhauterkrankungen erzeugt — darin stimmen Klein, Cohn und Jensen überein —; ferner daran, daß bei dem gleichen Infektionsmodus die Hefeherde sich mit Vorliebe im Zentralnervensystem lokalisieren, während die Eingeweide frei bleiben; ich erinnere weiter daran, daß Saccharomyces tumefaciens Curtis Sporen bildet, mithin eine Eigenschaft besitzt, die, soweit ich die einschlägige Literatur überschaue, keiner anderen bisher beschriebenen tierpathogenen Hefe zukommt.

Es unterscheiden sich die Hefen Plimmer, Leopold und Sanfelice in Bezug auf die Veränderungen, die sie im Tierkörper hervorrufen. Die einen Hefen erzeugen lediglich Hefetumoren, z. B. Sacharomyces hominis Busse, es bildet sich gleichsam nur ein lokaler Hefeherd, eine Kolonie, durch Vermehrung der Hefezellen an den Stellen, wo sie zur Entwickelung kommen können, ohne jede Reaktion des um-

gebenden Gewebes, wie Busse ausdrücklich betont. Andere wieder bewirken Ansammlung von polynukleären Leukocyten, wieder andere die Entstehung eines echten Granulationsgewebes.

Ich habe die Empfindung, daß die Veränderungen, die die Hefen in dem Tierkörper hervorrufen, für alle bisher beschriebenen pathogenen Blastomyceten unbedingt einer Nachprüfung durch einen geübten pathologischen Anatomen bedürfen. Die exakten Versuche Sternbergs, der bekanntlich unter der Leitung von Ziegler arbeitete, beziehen sich leider nur auf einige (5) Hefearten (Saccharomyces neoformans und ovar Sanfelice, Saccharomyces hominis Busse, Saccharomyces Leopold und eine von Sanfelice aus einem Mammacarcinom isolierte Hefe).

Wenn ich zum Schlusse dieser Auseinandersetzungen noch einmal auf die Versuche von Cohn mit Saccharomyces Klein zurückgreife, so glaube ich, darin stimme ich mit Jensen überein, daß dieser Blastomycet der ihm von Cohn zugedachten spezifischen Eigenschaft entkleidet werden muß, bei intravenöser Injektion Lähmungen zu erzeugen. Die Versuche anderer Autoren und vor allem auch meine vorstehend geschilderten Experimente beweisen, daß Saccharomyces Klein die berührte Eigenschaft mit anderen Blastomyceten teilt. Es ist daher meines Erachtens nicht angängig, wie Cohn es getan hat, den Saccharomyces Klein mit Rücksicht auf die Erzeugung von Lähmungen bei Versuchstieren als eine besondere Art hinzustellen, dieser Eigenschaft die Bedeutung eines wichtigen Trennungsmerkmals zu vindizieren.

Ich habe geglaubt, den vorstehenden Ausführungen Platz einräumen zu müssen, um damit zu einer erneuten Prüfung der pathogenen Hefen den Anstoß zu geben zum Zwecke der Klärung der großen Widersprüche, die in der Literatur niedergelegt sind.

Wer sich viel mit der Gruppe der Blastomyceten beschäftigt, wird Sanfelice unbedingt darin recht geben müssen, daß diese Krankheitserreger ein außerordentlich interessantes Beschäftigungsobjekt darstellen; eine Fülle von Fragen drängt sich bei der Arbeit mit ihnen auf, die noch der Lösung harren.

Ich möchte meine Betrachtungen nicht schließen, ohne zuvor noch einmal darauf hingewiesen zu haben, daß die sich in den letzten Jahren in auffallender Weise mehrenden Beobachtungen, daß die Blastomyceten beim Menschen anatomisch wohlcharakterisierte Erkrankungen erzeugen können, es uns zur Pflicht machen, mehr als bislang auf diese Gruppe von Krankheitserregern zu achten. Es unterliegt wohl nach den bisherigen Erfahrungen keinem Zweifel, daß wir noch interessante Entdeckungen zu erwarten haben werden.

Kritische Betrachtungen über die sogenannte „Syphilisspirochäte“.

I. Die „Silberspirochäte“.

[Aus dem Zool. Institute der Königl. Universität Berlin (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Fr. E. Schulze).]

Von Dr. **Theodor Saling**, Berlin.

Mit 12 Figuren.

In der kurzen Zeit, die seit Veröffentlichung meiner Kritik der *Spirochaete pallida* (40) verflossen ist, sind bereits zwei Arbeiten [von Walter Schulze (45) und Friedenthal (20)] erschienen, die ebenfalls die Richtigkeit meiner Anschauungen erweisen. Außerdem ist mir eine Fülle von Anerkennungsschreiben zugegangen, aus denen ich zu meiner Freude entnehmen konnte, daß in unparteiischen Kreisen trotz der sehr kräftig geführten Agitation zu Gunsten der „*Pallida*“ der Glaube an die sogenannte „Syphilisspirochäte“ doch noch nicht Wurzel zu fassen vermochte. Bei ruhiger Erwägung mußten notgedrungen die zahlreichen Widersprüche der Spirochätenverteidiger in grelle Beleuchtung treten und ließen deshalb eine definitive Stellungnahme für die „*Pallida*“ als verfrüht erscheinen. Wie es überhaupt möglich wurde, daß die „*Pallida*“ fast einen Siegeszug durch die wissenschaftliche Welt antreten konnte, erklärt sich meines Erachtens aus zwei Momenten: Da die Kritik beinahe ein Jahr hindurch schlief und kein Widerspruch erhoben wurde, so schrieben sich die Bestätiger in eine siegesgewisse Stimmung und „bestätigten“, sobald eben ein „gelungenes Präparat“ den Farbentrog verlassen hatte, ohne sich darüber klar zu werden, was für Gebilde sie vor Augen hatten, was sie eigentlich bestätigten. Sodann haben sich zahlreiche einflußreiche Persönlichkeiten für die „*Pallida*“ erklärt, ohne selbst persönlich diese wichtige Frage zum Gegenstande einer gewissenhaften Nachprüfung zu machen. Nachdem aber durch den Brief Flügges (19) bekannt wurde, daß auch Gaffky, Loeffler, Fränkel, Gruber, Pfeiffer, Paltauf, Neisser, Kruse, Lehmann, Gärtner und Dunbar von der ätiologischen Bedeutung der Spirochäte für die Syphilis durchdrungen sind, da gab es für Viele kein Halten mehr, um so weniger, als für die Bestätiger ein eventueller Rückzug in allen Ehren gedeckt war. Neisser hat dann kürzlich in Bern und auf dem Stuttgarter Aerzte- und Naturforschertag in einer an Angriffspunkten reichen Rede nochmals diesen Standpunkt öffentlich vertreten.

Unter solchen Umständen kann es dann nicht weiter wundernehmen, wenn kritische und gegenteilige Behauptungen sich nur langsam und allmählich Geltung verschaffen können oder gar von der Gegnerschaft totgeschwiegen werden sollen. Um dieser Taktik energisch zu begegnen, sehe ich mich genötigt, im Anschluß an die schon früher in Aussicht gestellten Besprechungen meinen Standpunkt nochmals klar zu präzisieren.

Im Vordergrund des Interesses steht naturgemäß die sogenannte „Silberspirochäte“. Es ist nur allzu verständlich, weshalb die Spirochätenanhänger gerade von ihrer Deutung als Gewebsfaser nichts wissen

wollen; ist doch erst nach Anwendung der Silbermethoden die Hauptstellungnahme für die „*Pallida*" erfolgt. Dies geht auch ganz unzweideutig aus dem Schreiben Flügges hervor: „Aber die weiteren Studien über diesen Parasiten und namentlich sein Verhalten in Schnitten von syphilitischen Affektionen hat Schaudinn und uns alle von der ursächlichen Bedeutung dieses Mikroben vollständig überzeugt." Ließe sich also die „Silberspirochäte" als ein Gewebselement dartun, so fiele damit die „*Pallida*" überhaupt.

Denn auch der Rückzug auf die Giemsa-Spirochäte ist abgeschnitten, einmal wegen des schon früher erbrachten Nachweises, daß in mit Anilinfarbstoffen tingierten luetischen Ausstrichen die vermeintliche „*Pallida*" identisch ist mit dem harmlosen Saprophyten *Spirochaete refringens*. Sodann dürfte nach den neuerdings erschienenen Arbeiten von Berger (7), Löwy (32) und Reuter (38) ein weiterer Versuch, der Giemsa-Spirochäte Geltung zu verschaffen, vergeblich sein, denn diese Autoren werfen so ziemlich alles über Bord, was Schaudinn einst mit Mühe und Not als Kriterien für den Lueserreger herauskonstruiert und sicherzustellen geglaubt hat. Auf die mit Anilinfarbstoffen dargestellte „Spirochäte", die lediglich als ein zuweilen auch bei Lues vorkommender Schmarotzer anzusprechen ist, will ich jedoch in einer besonderen Abhandlung eingehen.

Wenn ich schon in meiner vorigen Arbeit die im Gewebe mit Silber dargestellten „*Pallidae*" auf Grund zahlreicher eigener Versuche als feinste Nervenendfibrillen [1]) angesprochen habe, so ist diese Ueberzeugung jetzt, nachdem mir die verschiedensten Originalspirochätenpräparate vorgelegen haben (z. B. die von Bertarelli, Levaditi-Manouélian, Orth, Gierke, Beitzke), in mir nur noch gefestigt worden. Natürlich will ich nicht sagen, daß in jedem beliebigen, nicht luetischen Gewebe die Nervenendfibrillen so zur Darstellung gebracht werden können, daß sie wirklichen Spirochäten ähneln. Es müssen selbstredend die Bedingungen, welche bei einer luetischen Affektion vorliegen, möglichst naturgetreu nachgeahmt werden. Nun ist dies ja besonders bei kongenitaler Syphilis infolge der sich im Uterus abspielenden und dadurch eigenartigen Mazerationsverhältnisse kaum möglich; aber immerhin lassen sich künstlich wenigstens zwei wesentliche Faktoren nachahmen, mit denen man schon zum Ziele gelangen kann. Es muß nämlich 1) ein krankhafter Prozeß, etwa eine Entzündung, hervorgerufen und 2) eine Mazeration eingeleitet werden, so daß eine hinreichende Gewebslockerung eintritt. Die nachfolgende Schrumpfmethode Levaditis tut dann das Uebrige. Bei Verwendung lebensfrischen, gesunden Materials kann es dagegen nur in den seltensten Fällen in dem Maße zu Schrumpfungen kommen, weil bei der mangelnden Gewebslockerung die Nervenfibrillen vom Gewebe fest umschlossen gehalten werden. Aus demselben Grunde ist aber auch — wie jeder Neurologe zu klagen weiß — eine Silbertinktion der Nerven sehr erschwert, denn die Lapislösung vermag nur schlecht ein konsistenteres Gewebe zu durchdringen.

Also Mazeration nach voraufgegangenem krankhaftem Prozeß ist für die Darstellung der Silberspiralen von grundlegender Bedeutung.

---

1) Wenn ich in meiner vorigen Arbeit und im folgenden den Ausdruck „Nervenendfibrille" gebrauche, so will ich damit nur sagen, daß ich die letzten, feinsten Ausläufer des Nervensystems meine, ohne irgendwie zu der Streitfrage Stellung zu nehmen, ob es überhaupt regelrechte Endigungen der Nerven gibt oder ob diese schleifenförmig umbiegen.

Ob und inwieweit hierbei noch andere Faktoren in Betracht kommen, entzieht sich vorläufig noch meiner Kenntnis. Doch will es mir scheinen, als ob auch das Alter des Gewebes eine gewisse Rolle spiele, denn die sogenannten „Silberspirochäten“ sind in den weitaus größten Mengen bei Föten und Neugeborenen gefunden worden. So äußert sich auch Ehrmann (16) hierüber: „Es gelingt nämlich leicht, die Spirochäten hereditär-luetischer Organe darzustellen, während ihr Nachweis bei der erworbenen Syphilis auf große Schwierigkeiten stößt. Auch wir haben bisher bei der Untersuchung von syphilitischen Effloreszenzen (der acquirierten Lues) äußerst zahlreiche negative Befunde zu verzeichnen, trotz exaktester Befolgung der Levaditischen Methode und genauester Durchmusterung der Präparate.“ Im gleichen Sinne spricht Entz (18): „Es ist aber unverständlich, warum die Spirochäten — wenn sie wirklich die Erreger der Lues sind — in so wenigen Fällen in Schnitten von Primäraffekten Erwachsener nachgewiesen werden können.“ Wahrscheinlich ist diese Eigentümlichkeit darauf zurückzuführen, daß bei Neugeborenen schon an und für sich die Gewebe weicher und durchlässiger sind, so daß hier, wenn noch obendrein eine längere Mazeration folgt, die Organe bis zur Formlosigkeit gelockert werden können. Davon habe ich mich verschiedentlich selbst überzeugt, ja ich fand bei einem totfaulen Föten, dessen innere Organe etwa Vaselinkonsistenz besaßen, in jedweder Körperpartie die sogenannte „Silberspirochäte“ millionenweis.

Zwar wird von einer Seite [Versé (52)] behauptet, daß die „Spirochäten“ in den am stärksten veränderten Organteilen fehlen, dagegen an kaum sichtbar veränderten Stellen in ungeheuren Massen auftreten. Nun scheint ja der Begriff „Mazeration“ bei den einzelnen Autoren ein recht schwankender zu sein; das beweist z. B. der Umstand, daß Beitzke (5) eine nicht ausgetragene, 6 Tage post partum sezierte Totgeburt zu den nicht mazerierten Fällen stellt! Aber es bestehen ja auch wirkliche Unterschiede in der Mazeration. Sie kann — wie ich es persönlich gesehen — derart vorgeschritten sein, daß nicht nur Form und Struktur der Gewebselemente, sondern alles zerstört ist, daß man nur breiige Massen erblickt, ja überhaupt nicht entscheiden kann, ob man einen Ausstrich oder Schnitt vor sich hat. Dies trifft offenbar für die Präparate Versés zu. Die Stellen, die der Mazeration gänzlich zum Opfer gefallen sind, zeigen sich frei von „Spirochäten“, die anderen Gewebspartieen aber, die wohl stark gelockert, aber doch nicht gänzlich zerfallen sind, weisen die „*Pallidae*“ in Mengen auf, da die der Mazeration lange widerstehenden Neurofibrillen noch nicht vollständig aufgelöst sind, sich dagegen stark gekräuselt und intensiv schwarz tingiert haben. Reis (36) scheint etwas Aehnliches im Sinne gehabt zu haben, wenn er auf dem Ophthalmologenkongreß sagte: „Möglicherweise waren die Spirochäten aber auch schon durch die schwere Gewebsreaktion zu Grunde gerichtet oder vertrieben ....“

Im übrigen steht aber Versé (52) mit seiner Behauptung auf einem ganz isolierten Standpunkte, denn fast alle Spirochätenanhänger behaupten das Gegenteil. Doch wird diese Meinungsdifferenz lediglich im verschiedenen Mazerationsgrade der in Behandlung genommenen Gewebsstücke ihre Ursache haben.

In meiner vorigen Abhandlung habe ich besonders auf die Endfibrillen das größte Gewicht gelegt. Nach meiner heutigen Ansicht beteiligen sich zuweilen an der spirochätenartigen Deformierung aber auch die Fibrillen der stärkeren Nerven, d. h. nur dann, wenn das Ge-

webe hinreichend mazeriert ist. Es fallen alsdann sämtliche neuralen Scheiden und Hüllen der Mazeration anheim, so daß die zahlreichen, normalerweise im Nervenbündel parallel verlaufenden Fibrillen offen daliegen und allen Einflüssen der Mazeration, Schrumpfung, Silberfärbung etc. ganz ebenso ausgesetzt sind wie die feinsten marklosen Fäserchen. Auf diesen Gedanken kam ich durch die ziemlich häufige Beobachtung strangartiger „Spirochätenzüge“ in stark mazerierten Organen. Die Tatsache, daß sich im luetischen Gewebe die Nervenfibrillen relativ leicht mit Silber imprägnieren lassen, könnte man eventuell auch durch die Annahme erklären, daß bei verschiedenen Krankheitsprozessen (wie Lues, Geflügelspirillose, Nekrose etc.) Stoffe gebildet werden, die — zunächst das Gewebe als Ganzes weniger tangierend — speziell auf die Hüllen und Scheiden der Nervenfasern einen lösenden resp. lockernden Einfluß ausüben. Damit würde sofort verständlich, weshalb sich schon im scheinbar intakten Gewebe vereinzelte sogenannte „Silberspirochäten“ finden, nach Einsetzen der allgemeinen Gewebsmazeration aber in großen Massen auftreten. Erst wenn die Mazeration soweit gediehen ist, daß auch die Fibrillen zerstört worden sind, lassen sich keine „Silberspirochäten“ mehr nachweisen, und tatsächlich konnten sie gerade in den schwersten Erkrankungsformen nicht beobachtet werden. Daß die eigentlichen Fibrillen bei der Mazeration noch längere Zeit persistieren, während schon die Hüllen zerfallen sind, ist bekannt, und wird neuerdings auch wieder von Raeke (35) betont, der das Verhalten der Neurofibrillen bei progressiver Paralyse studierte, er sagt: „Interessant ist das lange Erhaltenbleiben von Achsencylindern nach Verlust der Markscheiden.“

Meiner Ansicht nach sind es häufig die Nervenfibrillen nicht allein, die durch spiralige Deformierung und Zerstückelung resp. diskontinuierliche Färbung wirkliche Spirochäten vortäuschen. Zuweilen ist — wie ich schon in meiner ersten Arbeit (40) sagte — eine sichere Entscheidung, ob es sich um Nervenelemente oder andere Gewebsfasern, z. B. elastische Fäserchen, handelt, ganz unmöglich. Der Umstand, daß meistens der Zusammenhang der Silberspiralen infolge der Mazeration zerstört ist, erschwert ja eine sichere Bestimmung ungemein. In vielen Fällen sind aber trotzdem noch genügend Anhaltspunkte vorhanden, um die sogenannte „Silberspirochäte“ mit Nervenfibrillen identifizieren zu können. Alle Streitfragen, ob wir es in den sogenannten „Silberspirochäten“ nun mehr mit Neurofibrillen als mit Bindegewebsfasern, elastischen Fasern etc. oder umgekehrt zu tun haben, sind ja aber ganz sekundärer Art. Der springende Punkt ist der, daß die sogenannten „Silberspirochäten“ keine Parasiten, sondern feinste Gewebsfäserchen sind, die durch Krankheitsprozeß, Mazeration und Schrumpfung deformiert wurden, und das habe ich durch sehr spezielle Nachprüfungen bewiesen.

Also die Mazeration ist für die Darstellung der Silberspiralen von wesentlicher Bedeutung. Auch der Umstand, daß es bei acquirierter Lues nur in seltenen Fällen gelingt, in Schnitten die „Silberspirochäte“ sichtbar zu machen, beruht nach meinem Dafürhalten einzig und allein darauf, daß die durch den luetischen Prozeß eingeleitete Mazeration doch noch nicht ausgedehnt und durchgreifend genug ist, um alle Nervenfibrillen in der bekannten Weise zu deformieren. Jedenfalls beschränkt sich bei der erworbenen Lues der Nachweis der Silberspirochäte auf die äußeren Exantheme. An Versuchstiere aber, z. B. Affen, wo die Möglichkeit

einer exakten Konservierung lebensfrischer Organe besteht, wagt man sich gar nicht heran. Warum kann Neisser die „Silberspirochäten" nicht in den frischen Organen seiner hochinfektiösen Affen finden? Freilich wäre auch hier, wenn die „Parasiten" in einwandfrei konservierten Organen vorhanden wären, erst der sichere Nachweis zu erbringen, daß sie nicht identisch sind mit deformierten Nerven- oder Bindegewebsfasern, Vor allem müßte der Nervenplexus mit all seinen Einzelheiten neben den „Parasiten" erscheinen, denn das muß man von der Cajalschen Methode verlangen, sonst ist das Präparat mißlungen und zur Beweisführung unverwendbar! Levaditi, der in Gemeinschaft mit Manouélian (30) derartige Versuche ausführte, konnte trotz ausgedehnter Untersuchungen nur in Sklerosen und den benachbarten Lymphdrüsen, d. h. also an Orten mit eingeleiteter Entzündung, nicht aber in den inneren Organen die „Silberspirochäte" nachweisen. Warum erscheint sie aber in den Organen hereditär-luetischer Neugeborener, und zwar millionenweise? Antwort: Wegen der hier viel ausgedehnteren Mazeration!

Nun wäre es aber ein bis heute einzig dastehender und durch keine ähnliche Tatsache gestützter Fall, wenn man behaupten wollte, daß der in enormen Mengen vorhandene „Lueserreger" sich nur in einem gründlich mazerierten Gewebe zur Darstellung bringen lasse. Es ist uns von allen Protozoenkrankheiten bekannt, daß der Erreger, sofern er in einem Organe in ausreichenden Mengen vorhanden ist, auch ohne Mazeration deutlich sichtbar zu machen ist. Aehnlich verhält es sich mit den durch Bakterien verursachten Erkrankungen, obwohl die Bakterienmembran für Farbstoffe und Reagentien oft schwer durchlässig ist.

Auf der anderen Seite ist es aber eine schon lange bekannte Tatsache, daß Nervenfibrillen sich besser mit Silber imprägnieren, wenn erst eine Gewebsmazeration vorausgegangen ist. Durch einen Einblick in die Untersuchungstechnik des Nervensystems wird man sich leicht davon überzeugen können, daß eine vorherige Mazeration der Nerventinktion durchaus günstig ist.

Der in luetischen Geweben stattfindende Mazerationsprozeß veranlaßt außer der besseren Färbbarkeit der Nervenfibrillen aber auch eine feine Zerstückelung, sowie ihre sehr auffallende, korkzieherartige Deformation. Wenn die infolge der Gewebslockerung einer Einwirkung von stark exponierten Nervenfibrillen in beinahe absoluten Alkohol gebracht werden, so deformieren sie sich begreiflicherweise recht erheblich, und zwar stärker, als es bei normalen Fibrillen der Fall wäre. Vollzieht sich dann die Uebertragung aus starkem Alkohol in Wasser (Levaditi), so werden die durch die Mazeration ohnehin stark in Mitleidenschaft gezogenen Fibrillen infolge der plötzlichen Quellung mit großer Gewalt zersprengt, und die hierdurch entstandenen Teilstückchen schnurren dann durch den mehrtägigen Aufenthalt in der Silberlösung resp. durch die spätere Entwässerung im Absolutus noch mehr zusammen.

Nun ist verschiedentlich (z. B. von Entz) bestritten worden, daß die Nervenfibrillen sich korkzieherartig zu deformieren vermöchten; andere bezweifeln, daß solche Formveränderung in gleichmäßigen Spiralen erfolgen könne. Solche Behauptungen sind falsch. Dürfte z. B. die in Fig. 6 meiner vorigen Arbeit dargestellte Nervenendfibrille aus der Nebenniere des Meerschweinchens einen derartigen Einwand als irrtümlich erweisen, so erfahren wir außerdem durch das Studium neurohistologischer Spezialwerke, daß der spiralige Verlauf von Neurofibrillen

recht häufig zu beobachten ist. Einer unserer besten Nervenforscher, Apáthy (1), vertritt sogar den Standpunkt, daß der gewundene Verlauf der Nervenfasern im kontrahierten Gewebe direkt typisch ist. Auf nebenstehender Fig. 1, die dem Werke Apáthys entnommen ist, sind Primitivfibrillen ersichtlich, von denen der Autor sagt, sie seien „wellig, gewissermaßen wie mit einer zitternden Hand gezeichnet". Diese im Kontraktionszustande befindlichen Neurofibrillen besitzen Aehnlichkeit mit Spirochäten. Im luetischen Gewebe finden nun durch Mazeration und nachfolgende ungeeignete Behandlung Schrumpfungen statt, die zur Folge haben, daß sich die sogenannten „Silberspirochäten" in allen möglichen Kontraktionszuständen, von der „typisch geraden" Form bis zur korkzieherartigen, vorfinden.

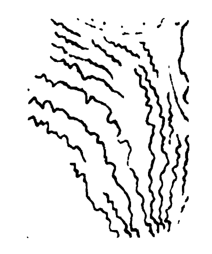


Fig. 1. Spirochätenähnliche Primitivfibrillen aus dem Auge von *Hirudo*. 1500× vergr. (Apáthy).

In Fig. 1 sind einige Nervenfibrillen ziemlich lang; das beruht aber nur auf der Schnittdicke. Da die spiralig kontrahierten Nervenfibrillen natürlich nicht in einer einzigen Bildebene verlaufen, so erscheinen sie um so kürzer, je dünner der Schnitt ist. Das zeigt Apáthy auf einer anderen Abbildung, in der nur die Fibrillen einer einzigen Bildebene eingezeichnet wurden. Dasselbe ist auch bei den sogenannten „Silberspirochäten" der Fall, wenn auch hier noch andere Umstände in Betracht kommen, die eine zum Teil wahre, zum Teil scheinbare Zerstückelung bewirkt haben.

Um aber allen weiteren Zweifeln ein Ende zu machen, reproduziere ich hier in nebenstehender Fig. 2 aus einer 1889 erschienenen Arbeit von Cuccati (14) einen normalen Nervenplexus, der den korkzieherartigen, gleichmäßig gewundenen Verlauf der Nervenfibrillen, in geradezu klassischer Weise veranschaulicht. Man kann es als eine Ironie des Schicksals betrachten, daß Cuccati diese zarten, in Lunge und Abdominalmuskeln gefundenen Nervenendigungen als „fibre pallide" bezeichnet; er äußert sich hierüber: „Le fibre nervose pallide formano una fitta rete sotto la sierosa da cui emanano talora delle prolungazioni che vengono fin sotto l'epitelio. La maggior coppia di terminazioni sensitive si trova sotto l'epitelio cigliato ed entro la sostanza che serve a collegare l'una cellula coll'altra." Daß diese Gebilde tatsächlich mark-

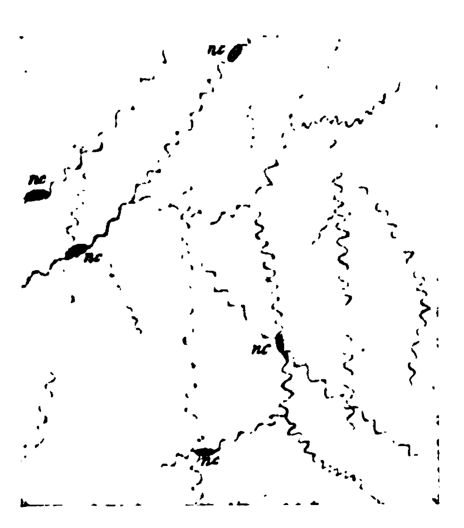


Fig. 2. Nervenplexus aus der Lunge von *Triton*.

Fig. 3. Zwei marklose Nervenfasern aus einer myelinhaltigen hervorgehend (Cuccati).

lose Nervenfäserchen sind, beweist der Autor durch seine Fig. 11, die in meiner Fig. 3 wiedergegeben ist. Man kann hier mit Deutlichkeit wahrnehmen, wie zwei korkzieherartig gewundene marklose Nervenfasern dichotome Verzweigungen einer anderen sind, die ihrerseits wieder aus einer myelinhaltigen hervorgeht.

Die Fig. 2 ist auch noch aus zwei anderen Gründen interessant. Einmal zeigen die Fibrillen auf der ganzen Strecke hie und da kleine punktförmige Verdickungen, die auch im Körper der Silberspirochäten beschrieben worden sind (cf. „körnige Anschwellungen" Hoffmanns). Sodann erblickt man innerhalb des Fibrillengeflechts auch 5 zusammenhanglose Fibrillen von typischem „*Pallida*"-Habitus. Also selbst im frischen Gewebe kann es unter Umständen zu einer diskontinuierlichen Tinktion kommen.

Cuccati hat aber noch eine weitere interessante Wahrnehmung gemacht; er fand nämlich auch oft Fibrillen von punktiertem Aussehen („apparenza punteggiata"), auf denen sich das Silber nur in Körnchenform niedergeschlagen hatte (cf. die berühmten „Körnchenspirochäten" = degenerierende „*Pallidae*"). Verf. hält diese Tinktion für unvollkommen und ist der Ansicht, daß sich mittels Nachfärbung mit Methylenblau der kontinuierliche Verlauf dieser marklosen Fäserchen nachweisen ließe.

Ich bin hiermit schon zu einem anderen Punkte gekommen, der ebenfalls für die Nervennatur der „Silberspirochäte" beweisend ist, d. i. die Färbung. Schon in meiner vorigen Arbeit habe ich mich ziemlich ausführlich über den Widerspruch ausgelassen, der darin besteht, daß auf Schnitten eben derselben Organe, in denen die „Spirochäten" durch Silber millionenweis hervorzuzaubern sind, mit allen sonst in der Histologie gebräuchlichen und als ausgezeichnet befundenen Protozoen- und Bakterienfarbstoffen diese rätselhaften „Parasiten" nicht zur Darstellung gebracht werden können. Sie sind aber keineswegs unempfänglich für Farbstoffe, denn merkwürdigerweise färben sie sich — wenn sie vorhanden sind — zuweilen im Ausstrich von Papeln und Lymphdrüsen. Selbst wenn man sich nun zu der absurden Annahme herbeilassen wollte, daß die Farbstoffe auf Schnitten schlecht einzudringen vermöchten, so muß man aber mit Bestimmtheit verlangen, daß ein parasitäres Mikrobium, welches im Gewebe in ungeheuren Mengen enthalten ist, nun im Ausstrich dieser Gewebe mit Leichtigkeit, und zwar mindestens in ebenso großen Quantitäten nachweisbar wird. Dem ist aber nicht so; vielmehr sind die Ausstriche entweder ganz spirochätenfrei oder es gelingt erst nach stundenlangem Suchen, einige wenige Exemplare zu entdecken. Dies geben auch die meisten Spirochätenanhänger zu; ich will von den neueren Fällen nur einige herausgreifen: Simmonds (47) fand besonders in Leber und Darm eines mazerierten luetischen Föten die „Silberspirochäte" in Mengen, sagt dann aber: „Auffallenderweise (von mir gesperrt!) war der Nachweis in frischen Strichpräparaten, gefärbt mit der Giemsa-Lösung, mißglückt." Ebenso konstatieren Frohwein (21), sowie Doutrelepont und Grouven (15) die Spirochäten auf Ausstrichen nur „in spärlichen Mengen". Tomasczewski (51) erblickte selbst in Geschabepräparaten [!] die erste Spirochäte oft erst nach 6—10-stündigem Suchen! Am lehrreichsten sind indes die diesbezüglichen Mitteilungen Beitzkes (5). Dieser Autor untersuchte 16 nicht mazerierte syphilitische Neugeborene. Davon enthielten 5 auf Ausstrichen innerer Organe gar keine Spirochäten; den Befund an 3 weiteren

Kindern möchte ich wörtlich zitieren, um zu zeigen, was man alles unter positivem Befunde versteht:

3. Fall: „Nicht ausgetragene Totgeburt .... In Ausstrichen der Leber Spirochäten, etwa je eine auf 10 Gesichtsfelder; in Ausstrichen von Milz und Knochenmark keine Spirochäten.“

9. Fall: „Totgeburt .... In Ausstrichen von Leber und Lunge keine Spirochäten; in Milzabstrichen findet sich nach längerem Suchen ein [sic!] zweifelloses [?] Exemplar!“

14. Fall: „2 Tage alter Knabe ... Im Ausstrich von der Leber zwei [!] Spirochäten. Keine in solchen von Milz, Knochenmark, Niere, Nebenniere, Pustelinhalt. Im Schnitt [Silbermethode!] finden sich vereinzelte Exemplare in der Nebenniere [!], keine in Leber [!!], Lunge, Milz, Pemphigus, Niere.“

Nachdem Beitzke neben diesen 16 nicht mazerierten Fällen noch 7 mazerierte Föten untersucht hat, bei denen die „Spirochäten“ auf Ausstrichen innerer Organe ebenfalls völlig fehlten, kommt er zu dem auffälligen Fazit: „Außer der völligen Uebereinstimmung in Form und Größe spricht dafür (nämlich für die Identität der Giemsa- und Silberspirochäte) der Umstand, daß sie in der Regel [!] in Schnitt und Ausstrich aus demselben Organ gleichzeitig nachgewiesen werden können.“ Wenn unter 23 Fällen 12 gänzlich negative und 3 höchst anfechtbare Resultate erhalten werden, wo bleibt da die Regel?

Aber dieser Widerspruch bleibt ja nicht mehr wunderlich, wenn man bedenkt, daß „Giemsa-Spirochäte“ und „Silberspirochäte“ zwei ganz verschiedene Dinge sind, denn erstere ist — in den meisten Fällen — wirklich eine Spirochäte, natürlich ein ganz harmloser Saprophyt, letztere dagegen ist ein Gewebselement, sei es nun eine Nervenfibrille oder Bindegewebsfaser. Die Ausstrichbefunde Beitzkes müssen jedenfalls mit dem allergrößten Bedenken aufgenommen werden, denn die Gebilde, die der Autor als „Spirochäten“ angesprochen hat, sind wahrscheinlich gar keine Mikroorganismen, weil nach Beitzkes Angaben der vermeintliche Parasit im gesilberten Schnitt in ungeheuren Mengen vorhanden ist, im Ausstrich dagegen meist gar nicht oder nur nach stundenlangem Suchen in 1 resp. 2 Exemplaren aufgefunden werden kann. Zu beachten ist ferner, daß Beitzke mit mazerierten Totgeburten gearbeitet hat, so daß eine bakterielle Sekundärinfektion vorliegen kann. Ich besitze solchen Beitzkeschen Leberausstrich, der neben sehr vereinzelten Spirochäten alle möglichen Bakteriensaprophyten enthält.

Ich meine doch, jedem unparteiischen Beurteiler muß dieser Gegensatz zwischen dem riesigen Spirochätenbefund in versilberten Schnitten und dem negativen in Ausstrichen ebenderselben Organe als unvereinbar erscheinen mit unserer heutigen Kenntnis von dem Wesen und Verhalten parasitärer Mikroorganismen. Hier liegt der wundeste Punkt in der Beweisführung der Spirochätenanhänger.

So viel über die Sichtbarmachung der „*Pallida*“ und nun zum „Parasiten“ selbst. Zunächst: Wie sieht die „Silberspirochäte“ aus? So einfach diese Frage ist, so schwer ist sie zu beantworten; von keinem Organismus liegen so viel Beschreibungen vor, und doch sind wir über keinen schlechter orientiert, denn es dürfte wohl eine unlösbare Aufgabe sein, aus der Unmasse von Angaben eine sichere Vorstellung von der sei es nun wahren oder Idealgestalt der „*Pallida*“ zu gewinnen. Wer ist nun kompetent in dieser Angelegenheit? — Doch allein der Entdecker der Silberspirochäte, und das wäre Bertarelli. Da nun seine „Silber-

pallidae" die Bestätigung Schaudinns, d. h. des Entdeckers der „Giemsa-*Pallida*", erfahren haben, so ist daran nichts mehr zu ändern, daß wir in den Bertarellischen Publikationen wirklich authentische Mitteilungen über die „echte Silberspirochäte" alias Nervenfibrillen besitzen. Abgesehen von seiner allerersten Abhandlung, in der auf die Silbermethode hingewiesen wird, liegen uns bis heute drei weitere Arbeiten vor.

Der ersten (8), welche den Nachweis von „Silberspirochäten" in luetischen Hautpapeln erbringt, sind drei Photogramme beigegeben, welche die Lagerung und Form der „*Pallidae*" dartun sollen. Wir erblicken im reichlich zerfallenen Gewebe eine große Anzahl ziemlich dicker, teils gleichmäßig, teils unregelmäßig gewundener Spiralen, die durch ihre ganze Anordnung noch den Eindruck erwecken, als ob sie ehemals kontinuierlich zusammenhingen und ein Fasergeflecht bildeten. Diese Spiralen vermeiden es ängstlich, in die oberste Hornschicht einzudringen, ein sonderbares Verhalten für einen Parasiten, das aber ganz dem von feinsten Nervenfibrillen entspricht. Die Identität mit Nervenendfibrillen wird aber zur Gewißheit, wenn man die knopfartigen Verdickungen am Ende der Spiralen ins Auge faßt. Die Vermutung, daß es sich hier teils um Varikositäten, teils um Nervenendbläschen resp. -endschlingen (cf. meine vorige Arbeit, p. 124) handeln könnte, ist ganz unabweisbar, da ja bekanntlich die Endausläufer der Nerven im Stratum germinativum liegen und Endköpfchen resp. schleifenförmige Umbiegungen zeigen.

Die zweite Arbeit Bertarellis (9) beschäftigt sich mit dem Befund der „Spirochäten" in der Cornea eines luetischen Kaninchens. Daß dies Tier für die syphilitische Infektion empfänglich ist und in seinem Körper das Virus beherbergt, dürfte nunmehr als feststehende Tatsache gelten; denn die ersten diesbezüglichen Behauptungen (2. Febr. 1905!) Siegels (46) wurden inzwischen bestätigt, in erster Linie von Walter Schulze (44), sodann auch von Scherber (41) und von Bertarelli (9). Greeff und Clausen (22) erzielten denselben klinischen Befund an der luetischen Kaninchencornea wie Schulze, ohne jedoch die Priorität dieses Autors auch nur mit einer Silbe zu erwähnen! Schulze hat obendrein durch erfolgreiche Rückimpfung auf Affen bewiesen, daß er eine luetische Infektion beim Kaninchen herbeigeführt hatte, während Greeff und Clausen diesen Nachweis für ihr Experiment nicht erbracht haben! Nach diesen vielen Bestätigungen blieb dann schließlich auch Neisser nichts anderes übrig, als seinen so lange verteidigten Standpunkt aufzugeben und sich den bis vor kurzem energisch abgelehnten Siegelschen Anschauungen anzupassen.

Betrachtet man nun die „*Pallidae*" Bertarellis auf den 6 Photogrammen von der Kaninchencornea, so fällt sowohl die große Zahl der Spiralen auf wie auch die bedeutende Feinheit dieser Gebilde im Gegensatz zu den erheblich dickeren „Silberpallidae" in Haut und Organen. Ich konnte mich davon ganz genau überzeugen, denn Herr Dr. Bertarelli hatte die Freundlichkeit, mir eines seiner Präparate zur Durchsicht zu überlassen. Dieser Dickenunterschied dürfte für die Spirochätenanhänger — da es sich doch um ein und denselben Parasiten handeln soll — recht schwierig zu deuten sein, findet aber sofort seine Aufklärung, wenn man die „Spirochäten" als Nervenfibrillen betrachtet, denn bekanntlich sind diese gerade in der Cornea äußerst zahlreich und

auch besonders zart, denn die Hornhaut wird in überwiegendem Maße von nackten Achsencylindern durchzogen.

Bertarelli sagt von den Cornea-„Spirochäten": „Ganz deutlich kann man wahrnehmen, wie sie der Direktion der Bindegewebsfibrillen folgen und zwischen sie hineintreten." Das konnte ich persönlich beobachten, jedoch noch eine andere Eigentümlichkeit, die aus beistehenden Figuren 4 und 5 ersichtlich und auch ein wenig auf dem Bertarellischen

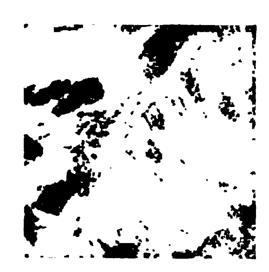


Fig 4. Sog. „Spirochäten" in einer luetischen Kaninchencornea.



Fig. 5. Die Figur 4 bei stärkerer Vergrößerung.

Photogramm No. 3, sowie in der Greeffschen Zeichnung[1]) angedeutet ist. Ich meine die höchst auffallende, beinahe mathematisch genau rechtwinklige Lage der Spiralen gegeneinander; sie streichen in verschiedener Höhe schichtweise übereinander hin und kreuzen sich rechtwinklig. Mitunter begegnen sich die Spiralen auch wie die Seiten eines Rhombus, und es besteht diese Anordnung nicht bloß an einzelnen Stellen, sondern über die ganze Cornea hin. Also ein gewiß merkwürdiges Verhalten eines Parasiten, der sich bei seiner verheerenden Tätigkeit gleichsam in militärisch gerichteten Reihen bewegt!

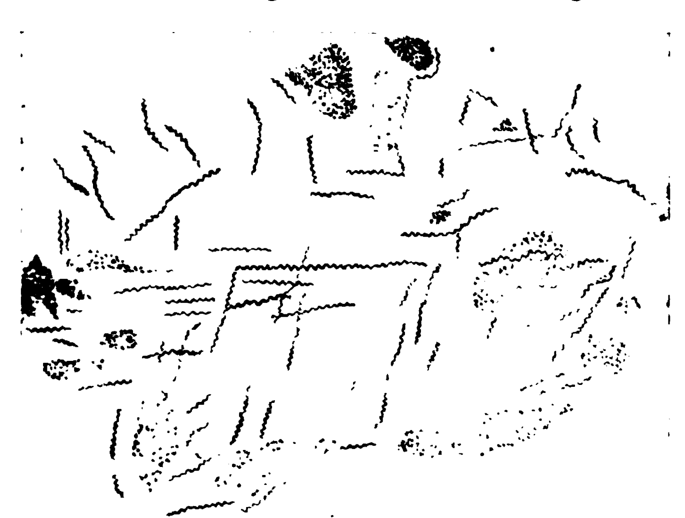


Fig. 6. Zeichnung von deformierten Neurofibrillen in der mazerierten Cornea eines luetischen Kaninchens. — Reichert, Apochr. 2. Komp.-Ok. 8.

1) Auch in der einen Figur der jüngst erschienenen Broschüre Hoffmanns („Die Aetiologie der Syphilis") ist diese rechtwinklige Lagerung deutlich zum Ausdruck gekommen.

Diese Verhältnisse lassen sich auch noch bei stärkeren Vergrößerungen erkennen, nur muß man dann ausgiebig die Mikrometerschraube benutzen und von einer photographischen Darstellung absehen. In Fig. 6 gebe ich daher eine naturgetreue Zeichnung; die rechtwinklige resp. rautenförmige Lagerung der Spiralen ist auch hier mit Deutlichkeit wahrzunehmen. Ich möchte hier auch ganz besonders auf die sehr langen Spiralfasern aufmerksam machen, sowie auf die oft recht unregelmäßigen Windungsverhältnisse. Einige Spiralen am rechten Bildrande liegen nur scheinbar in den Hornhautzellen, sie streichen in Wirklichkeit darüber hin. (Forts. folgt.)

Die Malaria im nördlichen Jeverlande.

Von Dr. **H. Weydemann,** Arzt in Hohenkirchen.

Vor einigen Jahren sind mehrere Veröffentlichungen, die sich mit der Malaria, ihrer Entstehung und Verbreitung im nördlichen Teile des Herzogtums Oldenburg beschäftigen [1]), erschienen. Die Veranlassung dazu liegt darin, daß im Jahre 1901 und 1902 die Malaria eine entschiedene Zunahme gezeigt hat. Diese Zunahme war für den nördlichen Teil des oldenburgischen Amtes Jever auffallend, für den westlichen Teil von Ostfriesland (Kreis Norden) wird sie von Köppen als unwesentlich bezeichnet.

Mühlens gab einen Ueberblick über die Verbreitung der Malaria in der Umgebung von Cuxhaven und im oldenburgischen Küstengebiete. Diese Ausführungen wurden von Martini, Thiele, und Köppen ergänzt. Im folgenden soll nun über meine, nunmehr achtjährigen Beobachtungen über die hiesige Malaria berichtet werden.

Hier im Küstengebiete der Nordsee, besonders so weit, wie der Marschboden reicht, hat die Malaria von jeher epidemisch geherrscht, und zwar in früheren Jahrzehnten weit schlimmer als jetzt. Ich erinnere an die Malariajahre 1858—1869, als die Hafenanlagen in Wilhelmshaven erbaut wurden [2]). Und daß damals das Fieber im nördlichen Teile des Amtes Jever (dem Wangerlande) nicht weniger schwer gewütet hat, geht aus zahlreichen mündlichen Schilderungen von Leuten hervor, die jene Zeiten hier mitdurchlebt haben.

Das Wechselfieber ist hierzulande eine dem Publikum völlig vertraute Krankheit, die es mit großer Sicherheit diagnostiziert. Die Symptome sind in den regulären Anfällen ja auch charakteristisch genug.

---

1) Mühlens, Beiträge zur Frage der gegenwärtigen Verbreitung der Malaria in Nordwestdeutschland. (Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 33 u. 34.)

Martini, Ueber die Entstehung einer Malariaepidemie im Harlinger- und Jeverlande während des Jahres 1901. (Ebendaselbst. No. 44.)

Thiele, Ueber Malaria in der Jeverschen Marsch. (Ebendaselbst. No. 36.)

Martini, Ueber die Entstehung der Neuerkrankungen an Malaria während des Frühjahres und Sommers in unseren Breiten. (Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XLI.)

Köppen, Ueber Malaria im nordwestlichen Deutschland. (Münchener med. Wochenschr. 1903. p. 1071.)

2) Wenzel, Die Marschfieber in ihren ursächlichen Beziehungen während des Hafenbaues im Jadegebiet von 1858—1869. Prag 1871.

Weil aber die Leute die Krankheit als solche leicht erkennen und auch wissen, daß das Chinin ein sicheres Heilmittel dagegen ist, so ist die Folge davon, daß sie sich selbst behandeln, denn das Chinin ist ja im Handverkaufe zu haben. Die Zahlen des Chininverkaufs der hiesigen Apotheke[1]) zeigen, wie weit die Selbstbehandlung der Malaria vom Publikum betrieben wird, denn selbst zu einer Zeit, wo die Malaria selten zur ärzlichen Beobachtung kam (bis vor 1901), wurden in der hiesigen Apotheke 1,5 kg Chinin im Jahre abgegeben, also 1500 Grammdosen bei einer Bevölkerung von 3500—4000 Seelen (so viel werden etwa von der hiesigen Apotheke versorgt). Dazu kommt dann die jedenfalls auch nicht ganz geringe Menge aus anderen Apotheken, z. B. aus Jever, das an den wöchentlichen Markttagen von der Bevölkerung stark besucht wird. Es ist natürlich nicht diese ganze Chininmenge gegen wirkliche Malaria verbraucht worden. Das Chinin hat sich im Laufe der Zeit als Hausmittel eingebürgert und wird von vielen Leuten bei jedem Unwohlsein genommen, namentlich wenn dieses Unwohlsein mit leichtem Frösteln einhergeht. Derartige Unpäßlichkeiten, wie sie im Gefolge eines Schnupfens z. B. häufig vorkommen, bezeichnet der Volksmund als „schleichende Fieber“.

In den ersten Jahren meiner hiesigen Praxis (seit 1898) war die Malaria hier entschieden eine seltene Erscheinung, nachdem sie in den beiden letzten Jahrzehnten des vorigen Jahrhunderts stark abgenommen hatte. Ich habe beobachtet:

1898	4	Fälle	1902	68	Fälle
1899	7	„	1903	25	„
1900	9	„	1904	20	„
1901	38	„	1905	14	„

Dabei ist zu bemerken, daß diese Zahlen nur die absolut sicheren Fälle von Malaria angeben, die zu meiner Beobachtung gelangt sind; irgendwie zweifelhafte Fälle, wie sie namentlich in den malariareicheren Jahren in größerer Anzahl vorkamen, sind nicht mitgezählt.

In den beiden ersten Jahren gründet sich die Diagnose auf den Fieberverlauf, auf den Milztumor, wenn ein solcher vorhanden war, und auf die prompte Wirkung des Chinins. Seit 1900 habe ich das Blut in einigen Fällen mikroskopisch untersucht, 1901 und 1902 fast regelmäßig und die Fälle aus den Jahren von 1903 an sind nur solche mit positivem Blutbefund. Gefärbt habe ich meistens nach Romanowsky, teilweise auch mit Boraxmethylenblau. Wenn in einigen Fällen die Blutuntersuchung unterblieben ist, so lag dies an äußeren Gründen; ich hatte auf den weiten Landtouren nicht immer Objektträger oder Deckgläser mit.

Es zeigten sich also in den ersten Jahren ganz vereinzelte Fälle, 1901 ein plötzliches Ansteigen, 1902 ein Maximum, dann ein allmähliches, gleichmäßiges Abfallen. Dies Aufflackern der Malaria in den Jahren 1901 und 1902 ist so auffallend, daß man den Gründen dafür nachgehen muß; ebenso auffallend ist der Abfall im Jahre 1903.

Martini führt in seiner ersten Veröffentlichung die Entstehung dieser Epidemie von 1901 und 1902 auf eine Einschleppung durch holländische Deicharbeiter zurück, die in den genannten Jahren am Deiche der Nordseeküste etwa in der Gegend der ostfriesischen Dörfer Bensersiel und Neuharlingersiel gearbeitet haben. Diese Arbeiter sollen un-

1) Mühlens a. a. O.

mittelbar nach ihrem Eintreffen am Arbeitsorte Anfang April 1901 Malaria gehabt haben, und zwar sollen unter 150 Arbeitern etwa 20 Kranke gewesen sein. Daß diese Arbeiter die Malaria eingeschleppt und besonders, daß sie sie hier verbreitet haben sollen, bestreitet schon Köppen, und ich kann mich dem nur anschließen. Diese Holländer haben mit der Malaria im Jeverlande jedenfalls gar nichts zu tun gehabt.

Martini sagt, „daß die Malaria im April 1901 zuerst im Nordharingerlande sich vermehrt zeigte, während des Juni 1901 im östlich bis südöstlich davon gelegenen Nord-Jeverlande, im Hohenkirchergebiete.“ Ich habe dagegen schon am 27. April 1901 in der Gemeinde Hohenkirchen und zwar in Tengshausen (24 km Luftlinie östlich von Bensersiel) einen Malariafall konstatiert. Am 19. Mai fand ich 2 weitere Fälle in einem etwa 200—300 m davon entfernten Hause; zwischen diesen beiden Häusern bestehen aus verwandtschaftlichen Gründen enge Beziehungen und vielfacher Verkehr. Im Laufe des Mai bekam ich noch einige weitere Fälle in Behandlung, bis auf einen noch weiter östlich von Tengshausen nach Minsen zu. Alle diese Fälle und auch die ersten Fälle im Juni fanden sich nun nicht zwischen Bensersiel und Tengshausen, sondern gerade auf der entgegengesetzten Seite. Schon dieser Umstand macht die Herkunft der Infektion aus der Gegend von Bensersiel nicht wahrscheinlich, denn zwischen dem ostfriesischen Bensersiel und dem jeverländischen Tengshausen besteht kaum ein direkter Verkehr derart, daß sich ein Bewohner von Tengshausen hätte in Bensersiel infizieren können. Aus demselben Grunde konnten keine Mücken durch Wagenverkehr verschleppt werden. Es ist ferner kaum anzunehmen, daß in Bensersiel infizierte Mücken auf eine Entfernung von 24 km durch den Wind fortgeführt sein könnten. Eine derartig weite Verschleppung der *Anopheles* durch Windströmung ist mir nicht bekannt. Auch wäre die Zeit für die Uebertragung der Malaria von den holländischen Arbeitern nach Tengshausen zu kurz gewesen. Die Arbeiter sind nach Martini anfangs April nach Bensersiel gekommen. Angenommen, sie wären schon am 1. April von *Anopheles* gestochen worden und diese hätten sich dann 2 Tage lang in einem 28° C warmen Raume aufhalten können, vielleicht an der Barackendecke über dem Kochofen der Holländer, so hätten auch bei späterer kälterer Temperatur während der Wanderung der Mücken die Malariakeime 12 Tage zur Reifung gebraucht. Wären sie also wirklich nach Tengshausen gelangt, so hätten die Mücken hier frühestens am 15. April jemand infizieren können. Die Inkubationszeit der Malaria beträgt durchschnittlich 12 Tage, also hätte der erste Malariaanfall am 27. April stattfinden können. Am 27. April kam der erste Fall in meine Behandlung und der Kranke gab an, am 26. den zweiten Anfall gehabt zu haben, demnach den ersten am 24. Der Patient ist also eher erkrankt, als es bei einer Infektion von Bensersiel aus hätte sein können beim Zusammentreffen der günstigsten Umstände. Nun kommt aber ein anderer Umstand, der die Infektion dieses meines ersten Patienten im Mai 1901 am Orte der Erkrankung so gut wie sicher macht. In demselben Hause, in dem dieser Patient, ein Knecht, erkrankte, litt im Sommer 1900 eine Magd (C.) an Malaria. Sie hatte die ersten Anfälle einer fieberhaften Erkrankung im Juni 1900, hatte am 24. Juli ein Rezidiv und dann wieder am 22. Oktober, und an diesem Tage fand ich bei ihr Tertianaparasiten. Ein weiteres Rezidiv hatte sie im Januar 1901. In dem vorher erwähnten, dicht bei Tengshausen gelegenen Hause war am 1. Juli 1900 ein Dienstmädchen (H.)

erkrankt, in einem nordöstlich von Minsen gelegenen Hause (Hafen) am 8. Juni 1900 ein Kind, beide mit positivem Blutbefund. Auch das Dienstmädchen H. hatte im Januar 1901 ein Rezidiv. Es liegt demnach doch näher anzunehmen, daß in diesen beiden Mägden C. u. H. die Infektionsquellen für die ersten Erkrankungen des Frühjahres 1901, wenigstens für die Bewohner der beiden Häuser zu suchen sind.

Im Jahre 1900 habe ich 9 Kranke an sicherer Malaria behandelt, und diese 9 sind sicher nicht die einzigen Malariafälle dieses Jahres im Jeverlande gewesen. Mein Kollege, Herr Dr. Ihben hierselbst, wird mindestens ebensoviele behandelt haben, und wie schon erwähnt worden ist, werden die meisten Malariakranken überhaupt nicht ärztlich behandelt; in ärztliche Behandlung kommen fast nur Kassenkranke, diese aber fast alle. Es lag also für den Beginn der Epidemie des Jahres 1901 genügend Infektionsmaterial in unserer Gegend selbst vor, ohne Frage so viel, daß die 20 malariakranken holländischen Arbeiter in dem entfernten Bensersiel dabei gar nicht ins Gewicht fallen.

Ich habe schon bemerkt, daß die Leute, die nicht wie die Arbeiter und Dienstboten einer Krankenkasse angehören, in den allermeisten Fällen ihre Malaria selbst behandeln. Diesen Umstand halte ich für die Erhaltung der Malaria für besonders wichtig. Die, die das Chinin selbst bezahlen müssen, sehen es noch immer als ein verhältnismäßig teueres Mittel an. Außerdem schmeckt es schlecht, denn das im Handverkauf bezogene Pulver wird meist trocken geschluckt, ohne Oblaten. Aus diesen beiden Gründen wird hier in der Regel zu wenig Chinin genommen, auch Erwachsene nehmen meist nur $^1/_4$—$^1/_3$ g den Tag. Da ja auch eine solche geringe Dosis oft im stande ist, die Anfälle für einige Zeit ausbleiben zu lassen, so wird sie zunächst gar nicht oder nur einige Male wiederholt. Die Krankheit wird aber nicht geheilt, sondern nur für kurze Zeit latent, zumal da auch auf die Zeit des Einnehmens kein Gewicht gelegt wird; meist wird das Chinin zu Beginn oder während des Anfalles genommen. Nach kurzer Zeit folgt nun ein Rezidiv und dann werden wieder eine oder wenige kleine Chinindosen genommen. So wiederholt sich das Spiel. Besonders die älteren Leute geben an, daß sie früher ein bis zwei Jahre lang an Fieber gelitten hätten, das trotz Chinin immer wiedergekehrt sei. Solche lange mit kleinen Chinindosen behandelte Kranke und auch solche, die überhaupt nicht behandelt werden, kommen auch jetzt noch vor und sie sind als Gametenträger anzusehen und bieten eine Infektionsquelle für die *Anopheles* dar. Auf diese Weise wird durch die ungenügende Behandlung der Ausbreitung der Malaria geradezu Vorschub geleistet.

Zudem ist die hiesige Malaria (ich habe bisher nur Tertiana gesehen) in vielen Fällen recht hartnäckig. Trotz reichlicher Chiningaben und genauer ärztlicher Anweisung kommen sehr oft nach kurzer Zeit Rezidive vor. Ich lasse nach Konstatierung der Krankheit 5—6 Tage nacheinander je 1 g Chinin. hydrochloric. 5 Stunden vor dem zu erwartenden Schüttelfroste nehmen und dann diese Dosis 2—3 Monate lang jeden zehnten und elften Tag wiederholen. Trotzdem kommen die Patienten nicht selten während der Zeit, wo sie noch Chinin nehmen sollten, mit Rezidiven. Dies liegt ja sicher oft an der Nichtbefolgung der ärztlichen Vorschriften, vielleicht aber auch daran, daß der Zeitraum von 10 Tagen zwischen den Chiningaben zu groß ist. Diese Erfahrung

habe ich in letzter Zeit bei meinem eigenen Söhnchen gemacht, das schon am 9. Tage nach der letzten Chinindosis einen neuen Anfall bekam. Es muß also bei der Verbreitung der Malaria stets mit einer Anzahl von nicht völlig Geheilten gerechnet werden, die eine Infektionsquelle darstellen. Es sind mir auch fast in jedem Winter einige Malariafälle zu Gesicht gekommen (im Januar und Februar). Es waren dies stets solche Patienten, die im Jahre vorher bereits Anfälle gehabt hatten, ein Beweis, daß stets Parasitenträger in unserer Gegend vorhanden sind. Diese Parasitenträger können, wenn in den warmen Viehställen *Anopheles* vorhanden sind, Gelegenheit zum Ausbruch von kleinen Hausepidemieen geben. Eine derartige Hausepidemie von 3 Fällen habe ich im März und April dieses Jahres in einem Bauernhause in Hohenkirchen beobachtet zu einer Zeit, wo die höchste beobachtete Tagestemperatur nur einmal 8,5 ° C erreichte, die Durchschnittstemperatur aber nur 3 ° C betrug. Ein Knecht in diesem Hause hatte im Juli 1905 Malariaanfälle gehabt und kam mit Malaria wieder in meine Behandlung am 8. März 1906. Das $2^1/_2$-jährige Töchterchen des Dienstherrn erkrankte am 6. April, dieser selbst am 14. April. Da ich die Familie genau kenne und weiß, daß Vater und Tochter vorher keine Malaria gehabt haben, so bleibt nur die Annahme einer neuen Infektion Ende März resp. Anfang April übrig. Jedenfalls haben die Mücken in dem gefüllten, warmen Viehstalle eine für die Entwickelung der Malariakeime nötige Temperatur gefunden. Denn die Temperatur in diesen Ställen, die oft 50 Stück Vieh und mehr enthalten, ist, wie ja bekannt ist, recht hoch, wenn wohl auch nicht so hoch, wie sie Martini[1]) in einigen Häusern in Bant an den Zimmerdecken gefunden hat, aber sie bleibt dafür der Zimmertemperatur gegenüber auch viel konstanter.

Parasitenträger, die keine Anzeichen von Erkrankung boten, fand ferner Mühlens[2]) unter den Kindern in einigen von ihm systematisch untersuchten hiesigen Schulen und auch bei jüngeren Kindern. Dies weist nach Koch auf den endemischen Charakter der Malaria in unserem Lande hin. Man findet ferner bei anderen Gelegenheiten bei hiesigen Kindern sehr häufig vergrößerte, palpable Milzen, bei mehr oder weniger stark anämischem Aussehen ihrer Besitzer. Auch diese bin ich geneigt, wenigstens zum Teil auf Malaria zurückzuführen. Parasiten habe ich in solchen Fällen allerdings nicht konstatieren können, wohl aber öfter Polychromatophilie und basophile Körnung der roten Blutkörperchen. Von solchen Fällen, wie es erforderlich wäre, eine große Anzahl von Präparaten zu untersuchen, fehlt mir die Zeit.

Gegen die Ansicht von Martini, daß die Malaria sich von Bensersiel in verschiedenen Zügen nach verschiedenen Richtungen ausgebreitet habe, will ich noch anführen, daß die wenigen von mir beobachteten Fälle der Jahre 1898—1900 sich ziemlich gleichmäßig über das ganze Gebiet meiner ärztlichen Tätigkeit verteilen, d. h. über die Gemeinden Hohenkirchen, Tettens, Oldorf, Wiarden und Minsen. Der Ort Hohenkirchen liegt etwa in der Mitte dieses Bezirkes.

Ob sich in Ostfriesland die Malaria von Bensersiel aus verbreitet hat und ob dafür die holländischen Arbeiter anzuschuldigen sind, das entzieht sich meiner Beurteilung. Für das nördliche Jeverland trifft diese Ansicht Martinis, wie aus dem oben Angeführten hervorgeht, sicher

1) Martini, Neuerkrankungen an Malaria, Tafel IX.
2) a. a. O.

nicht zu, für unsere Gegend kann es sich nur um das Aufflackern einer lange für erloschen gehaltenen Endemie handeln, und es bleibt nach einem anderen Grunde dafür zu suchen.

Da uns jetzt die Art der Uebertragung des Malariakeimes bekannt ist, muß der Grund für die Zunahme der Erkrankungen liegen entweder bei den Malariaparasiten, oder bei den befallenen Menschen, oder bei den übertragenden Mücken. Was zunächst die Parasiten anlangt, so können sie wohl außer Betracht bleiben, da uns über die Zunahme und Abnahme ihrer Virulenz nichts bekannt ist.

Bei den erkrankenden Menschen könnte es sich um eine Zunahme der Disposition für Malaria handeln. Auch über die Disposition zur Malaria wissen wir noch wenig. Man muß wohl annehmen, daß jeder Mensch, der mit Malaria infiziert wird, auch erkrankt. Vielleicht verleiht ein öfteres Ueberstehen der Krankheit eine gewisse Immunität, denn bei Leuten, die nicht oder nur mit indifferenten Hausmitteln behandelt werden, und es kommen auch jetzt wohl noch solche Fälle gelegentlich vor, bleiben die Anfälle schließlich weg. Aber da die Malaria hier seit Jahrzehnten selten war, dürfte eine nennenswerte Immunität bei der gegenwärtigen Generation kaum zu finden sein. Im allgemeinen gelten hier die aus malariafreien Gegenden eingewanderten Personen für besonders disponiert. Das sind hier die Dienstboten beiderlei Geschlechts, die zahlreich aus den fieberfreien Sand- und Moordistrikten Ostfrieslands kommen. Daß diese Personen öfter erkrankt sind, als wie die eingeborenen Marschbewohner, kann ich nicht konstatieren. Als Beispiel will ich anführen, daß in der Gemeinde Minsen aus Ostfriesland eingewanderte Knechte und Mägde selten sind, die, die dort dienen, sind zum größten Teil in der Gemeinde zu Hause. Gerade aber diese Gemeinde hatte 1901 und 1902 die meisten erkrankten Dienstboten. Daß das Gesinde der Landwirte verhältnismäßig häufig erkrankt, liegt meiner Ansicht nach daran, daß es in geschlossenen, dunklen Alkoven schläft, in denen es im Sommer von Mücken geradezu wimmelt. Diese Alkoven fürs Gesinde liegen zwischen dem Viehstalle und den Wohnräumen der Herrschaft, näher an dem ersteren und sind weder ventilierbar noch für Mücken abschließbar. Die Herrschaft hat in letzter Zeit das Schlafen in Alkoven fast gänzlich aufgegeben und benutzt Bettstellen und Schlafzimmer, die nachts durch das Einsetzen eines Gazefensters gegen das Eindringen von Mücken geschützt werden.

Also auch bei den Menschen ist kein Grund für die Zunahme der Malaria zu finden. Es bleiben nun noch die *Anopheles*. Daß sie hier überall vorkommen, ist von Mühlens und Martini schon angeführt worden, und ich kann es nur bestätigen. Bei genügend vorhandenem Infektionsmaterial, und das ist, wie ich gezeigt habe, hier stets vorhanden, wird mit der Zunahme der *Anopheles* auch eine Zunahme der Malaria erfolgen. Die Gelegenheit für die Mücken, sich zu vermehren, hängt aber aufs innigste mit der Oberflächenbeschaffenheit des hiesigen Landes zusammen. Die Marsch ist bei ihrem schwer durchlässigen Boden, bei der geringen Höhenlage etwa im Niveau des Meeresspiegels und bei dem feuchten Klima reich an Oberflächenwasser, und dies ist, da es zum Tränken des Viehes und zum Gebrauche im Haushalt dienen muß, teils stagnierend, teils mehr oder weniger langsam fließend. Es stagniert völlig in den sog. Graften und Kuhlen; das erstere sind tiefe, breite Gräben, die die großen Bauernhäuser teilweise umgeben und Gebrauchswasser enthalten; letztere sind meist rundliche, mehrere

Meter im Durchmesser haltende, tiefe Gruben auf den Weiden und Ackerländern; sie dienen zur Viehtränke. Langsam fließt das Wasser in den Gräben (hier Schlöte genannt), rascher in den Zuggräben und Tiefen. Die Gräben trennen die einzelnen Landstücke, dienen als Viehtränke und vor allem dazu, das überflüssige Niederschlagswasser, das in dem schweren Boden nur sehr langsam versickert, abzuführen und zwar zunächst in die Zugschlöte (breitere Gräben) und dann in die Tiefe (Kanäle). Diese Tiefe münden durch Siele (in die Deiche eingebaute Türen) in die See. Die Zuggräben und Tiefe werden amtlich beaufsichtigt und werden rein gehalten, die Schlöte sind je nach der Aufmerksamkeit, die man ihnen schenkt, rein oder zeigen eine mehr oder weniger reichliche Sumpf- und Wasserflora, deren Hauptvertreter Batrachium, Lemna, Alisma, Potamogeton, Cyperaceen und Gramineen (besonders reichlich Phragmites communis) und besonders Algen verschiedener Art sind. In den so bewachsenen Gräben fließt natürlich das Wasser recht langsam, in den reinen Wasserzügen dagegen, je nach der Menge der Niederschläge, die fällt, mehr oder weniger rasch. Für die Landwirtschaft ist dies weitverzweigte Kanalsystem natürlich unentbehrlich. Hier finden die *Anopheles* vorzügliche Gelegenheit, ihre Eier abzulegen, und wie Mühlens nachgewiesen hat, finden sich überall ihre Larven vor. Da nun kein Haus im ganzen Gebiete mehr als 100 m vom nächsten Wasserzug entfernt ist, so wird es den Mücken außerordentlich leicht, in die Wohnungen zu gelangen.

Herrscht nun ein sehr trockener Sommer, wie z. B. der von 1905, wo von April bis Juli in Hohenkirchen kein Tropfen Regen fiel, so trocknet ein großer Teil dieser Wasserläufe gänzlich aus und wird dann von den Sielen aus mit Seewasser gefüllt, damit das Vieh nicht die trockenen Gräben passieren kann und wegläuft. Weder in den ausgetrockneten, noch in den mit Salzwasser gefüllten Gräben kann die *Anopheles*-Brut aufkommen. In einem solch trockenen Sommer muß also die Zahl der *Anopheles* und damit auch die Malaria abnehmen. In der Tat waren die Malariafälle des Jahres 1905 spärlich. Auch 1904 herrschte eine ziemlich lange Trockenperiode, wenn sie auch nicht so lange dauerte und so stark war wie 1905. Auch 1904 waren wenig Malariafälle.

Auch sehr nasse Sommer sind der Vermehrung der *Anopheles* nicht günstig. Die reichlichen Regengüsse füllen die Gräben oft bis an den Rand und darüber hinaus mit Wasser, niedriges Land wird zuweilen ganz unter Wasser gesetzt, die Mücken haben genügende Gelegenheit zur Eiablage. Aber ein hoher Wasserstand ist der Landwirtschaft in unserer Niederung außerordentlich schädlich, man tut alles, um das Wasser so rasch als möglich loszuwerden. Die Gräben werden eifriger als sonst gereinigt, die Siele bei jeder Ebbe offen gehalten, so daß in den Wasserzügen eine ziemlich starke Strömung nach dem Meere zu entsteht. Die an der Wasseroberfläche sich aufhaltenden Eier und Larven der *Anopheles* werden mitgerissen und ins Meer geschwemmt, ehe sie ihre Entwickelung vollendet haben, denn bei der sehr guten Entwässerung des Landes und den nicht großen Entfernungen vom Binnenlande nach der See, legt das Wasser die Strecke in kurzer Zeit zurück.

Auch Wenzel hat beobachtet, daß in den außerordentlich trockenen Sommern von 1864 und 1865, wie in den regenreichen Jahren 1860, 1866 und 1867 die Malariaepidemieen klein waren oder ganz ausfielen (1864). Die Abnahme der *Anopheles* und damit der Malaria in regen-

reichen Jahren muß übrigens jetzt viel leichter eintreten als damals, da seit der Erbauung von Wilhelmshaven die Abwässerung im Jeverlande sehr viel verbessert worden ist. Diese verbesserte Abwässerung und die dadurch gegebene Möglichkeit einer Wegschwemmung eines großen Teiles der *Anopheles*-Brut ist zugleich mit dem reichlicheren Chiningebrauch, an den sich das Publikum hier in der Marsch allmählich gewöhnt hat, meiner Ansicht nach der Grund dafür, daß die Malaria in den letzten Jahrzehnten hier so bedeutend zurückgegangen ist. Die Abwässerung ist zeitweise sogar so energisch gehandhabt worden, daß schon seit einigen Jahren Stimmen laut wurden, die im Interesse der Landwirtschaft gegen ein zu starkes Ablaufenlassen des Wassers Front machen.

Ebenso wie für die Abnahme, kann auch für die Zunahme der Malaria die Abwässerung eine Rolle spielen. Bei einer bestimmten mittleren Menge der atmosphärischen Niederschläge wird das durch Verdunstung, Verbrauch und Ablauf verloren gehende Wasser durch den fallenden Regen gerade ersetzt werden. Die Gräben u. s. w. haben dann fast den ganzen Sommer hindurch einen mehr oder weniger konstanten Wasserstand, den man durch Schließen der Sieltüren zu erhalten sucht. Die Strömung in den verschiedenen Wasserläufen hört dann fast gänzlich auf, und die *Anopheles*-Larven können sich ungestört entwickeln, und da die Möglichkeit, sich mit Malaria zu infizieren, stets vorliegt, so wird nun mit der Zunahme der Mücken auch eine Zunahme der Malaria eintreten. In den malariareichen Jahren 1901 und 1902 haben wir jedenfalls eine auffallend reichliche Menge *Anopheles* gehabt und besonders in den Alkoven der Dienstboten und der Arbeiter saßen sie zu Hunderten. Die Niederschlagsmengen dieser Jahre waren weder auffallend reichlich, noch auffallend gering, wenigstens schätzungsweise, denn Regenmessungen habe ich damals leider noch nicht angestellt.

Daß in den auf 1902 folgenden Jahren die Malaria nicht plötzlich, sondern allmählich abfiel, erklärt sich wohl ungezwungen dadurch, daß bei der Zunahme 1902 die Infektionsgelegenheit so zugenommen hat, daß die auch in den ungünstigen Sommern hier immer noch in ziemlicher Menge vorhandenen *Anopheles* genügten, um die Epidemie noch in geringem Maße zu unterhalten.

Da das Material einer Landpraxis, vor allem in einer Gegend mit rein landwirtschaftlicher Bevölkerung, sehr konstant ist, so glaube ich, daß es erlaubt ist, aus der immerhin geringen Anzahl der zu meiner Beobachtung gelangten Malariafälle auf den Gang der Epidemie zu schließen. Es verteilen sich von 1901 an die Fälle folgendermaßen:

	Januar	Febr.	März	April	Mai	Juni	Juli	August	Sept.	Oktober	Novmbr.	Dezmbr.
1901	—	—	—	1	3	6	3	9	9	3	—	—
1902	—	1	3	14	12	17	11	5	3	2	—	—
1903	1	—	2	4	5	6	5	1	—	2	—	—
1904	—	—	—	1	6	7	2	—	3	—	—	—
1905	—	—	—	1	—	2	7	5	—	—	—	—
1906	—	—	2	11	12	—	—	—	—	—		

Demnach haben die Epidemieen von 1901 und 1902 im allgemeinen dem der Malaria in Deutschland eigentümlichen Typus[1]) entsprochen und zeigen schon ein Ansteigen der Erkrankungsziffer im Frühjahr. Das rasche Absinken der Erkrankungsziffer im Herbst ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß im Spätsommer die Temperatur hier rasch absinkt und nicht mehr hoch genug ist, um die Malariakeime zur Reife zu bringen. Seit 1902 hat der August nur einmal (1905) die Durchschnitts-

1) Vgl. Martini, Neuerkrankungen an Malaria.

temperatur von 16° C um ein geringes überschritten, 1902 blieb er unter 15° C (14,7), während der Juli 1902 nur 14,2° C erreichte. Der September erreichte 13°, meist nicht mehr, nur 1903 14,6°, der Oktober blieb meist unter 10°. Auch in den Häusern und in den Ställen ist im Herbst die Temperatur niedrig, und zwar weit niedriger als im Winter, da hier zu Lande die Wohnräume erst spät im Herbst und dann auch selten den ganzen Tag geheizt werden und das Vieh oft erst Ende November in die Ställe kommt. Von da an erreichen die Bauernhäuser erst ihre hohe winterliche Temperatur. Ob aber hierzulande in den Hauptwohnräumen (in den Arbeiterhäusern ist es die Küche) auch unter der Decke so hohe Temperaturen erreicht werden, wie sie Martini für Bant angibt, erscheint mir vor der Hand noch zweifelhaft. Denn im Gegensatz zu dem städtisch gebauten, großen Orte Bant stehen hier auf dem Lande die Häuser völlig frei und haben wegen der meist schlecht schließenden Fenster und Türen eine recht lebhafte natürliche Ventilation, die sich im Winter bei starkem Wind, und daran fehlt es hier an der Küste selten, oft sehr unangenehm bemerkbar macht.

Was nun die einzelnen Malariafälle anlangt, so scheinen sie jetzt immer ziemlich harmlos zu verlaufen. Ein Todesfall an Malaria ist mir, solange ich hier ansässig bin, nicht zur Kenntnis gekommen, die Anfälle bleiben meistens nach der ersten, rechtzeitig genommenen Chiningabe bei genügender Nachbehandlung weg. Rezidive sind allerdings, wie schon vorher erwähnt, häufig. Auch Komplikationen sind von mir nur selten beobachtet, auch nicht das hier sog. „Gallenfieber“, unter dem das Publikum hier starkes, galliges Erbrechen im Gefolge der Malariaanfälle versteht. Pneumonie in Verbindung mit Malaria[1]) habe ich zweimal gesehen. Das eine Mal blieb nach Lösung der pneumonischen Infiltration Fieber bestehen und das Blutpräparat zeigte die daneben herlaufende Malaria an. In anderen Fällen klagte der Malariakranke von vornherein über heftige Schmerzen in der Milzgegend, die Milz war leicht geschwollen. Nachdem die Anfälle auf Chinin aufgehört hatten, blieben Milzschwellung und heftige Schmerzen in der Milzgegend bestehen und 7 Tage nach dem letzten Anfalle begann sich langsam eine Pneumonie des linken Unterlappens auszubilden, die recht schwer verlief. Am 7. Tage endete diese Pneumonie kritisch, während Infiltration und pleuritisches Reiben weiter bestanden. 2 Tage darauf erfolgte wieder ein Malariaanfall. Der Patient machte eine sehr langsame Rekonvaleszenz durch. Ein anderes Mal soll ein Patient auf die erste Chinindosis von 1,0 g unter heftigsten Schmerzen im Leib eine Nieren- oder Blasenblutung bekommen haben. Als ich hinkam, war der Urin, der Blut enthalten haben sollte, leider bereits weggegossen worden. Wiederholt hat sich die Blutung nicht, nur dauerten die Schmerzen noch kurze Zeit an, doch vertrug Patient später Chinindosen von 0,5 g ohne Beschwerden. Ob es sich um eine Folge der Malaria, des Chinins, etwa Schwarzwasserfieber, oder um ein zufälliges Ereignis gehandelt hat, muß ich dahingestellt sein lassen.

Zum Schlusse möchte ich noch bemerken, daß in diesem Frühjahre in den Monaten April und Mai wieder eine gewisse Zunahme der Malariaanfälle zu beobachten war. Ich behalte mir vor, eventuell später noch darauf zurückzukommen.

---

1) Tsuzuki, Ueber die sekundäre Infektion mit Fränkelschen Pneumokokken bei Malariakranken. (Archiv f. Schiffs- und Tropenhygiene Bd. IX. p. 442.)

Nachdruck verboten.

Zwei wenig bekannte Ankylostomen und Oesophagostomum dentatum.

Von Dr. **v. Linstow.**

Mit 1 Tafel.

Necator americanus Stiles.

Fig. 1—5.

Stiles, A new species of hookworm (*Uncinaria americana*) parasitic in man. (Amer. Med. Vol. III. 1902. No. 19. p. 777—778. — Ann. report Bureau of animal industry for 1901. Washington 1902. p. 183—192. Fig. 120—127. — Hyg. laborat. Bull. Publ. health, marine hosp. serv. U. S. Washington 1903. p. 1—122. 86 Fig.)
v. Linstow, *Ankylostomum americanum* Stiles aus *Simia troglodytes.* (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903. p. 526—527.)
Stiles and Goldberger, A young stage of the American hookworm — *Necator americanus* (Stiles 1902), 8—12 days after the infection in rabbits and dogs. (Amer. Med. Vol. XI. 1906. No. 2. p. 63—65. 2 Fig.)

Von meinem Freunde, Prof. R. Blasius, erhielt ich eine große Menge dieses Nematoden, der auf Porto Rico gesammelt war, und kann ich die Beschreibung von Stiles in mehreren Punkten ergänzen.

Die Cuticula ist in Abständen von 0,0039 mm quergeringelt; der Exkretionsporus liegt etwas vor der Mitte des Oesophagus, dessen Länge er von vorn nach hinten im Verhältnis von 8 : 9 teilt; dicht vor ihm liegt der Nervenring; die Halsdrüsen reichen 0,35 mm weit nach hinten; 0,37 mm hinter dem Kopfende stehen in den Seitenlinien 2 große, kegelförmige, die Cuticula 0,026 mm weit überragende Nackenpapillen. Das Kopfende ist nach der Dorsalseite gekrümmt; der Mundbecher hat eine vierseitige Oeffnung (s. Stiles, 1902, Fig. 123); Haken am Rande fehlen, am Grunde aber stehen 5 Zähne, ein kegelförmiger, medianer, dorsaler, welcher der Länge nach durchbohrt ist von einem Kanal, dem Ausmündungsrohr der dorsalen Oesophagusdrüse; ventral von ihm steht jederseits ein etwas niedrigerer, kegelförmiger Zahn und ventral von diesem jederseits ein noch niedrigerer, breiter, mit nach der Mittellinie gerichteter Spitze; Stiles hat diese letzteren nicht gesehen. Am ventralen Rande der Mundbecheröffnung stehen 2 sichelförmige Platten mit schneidenden Rändern; die Seitenwände des Mundbechers sind durch Rippen verstärkt, von Stiles Papillae genannt; die ventralen sind breiter als die dorsalen. Der Oesophagus nimmt beim Männchen $^1/_{10}$, beim Weibchen $^1/_{13}$ der ganzen Tierlänge ein, und seine hintere Hälfte ist kolbenförmig angeschwollen; der Darm ist im Beginn etwas breiter als der Oesophagus und zeigt seitliche Ausbuchtungen.

Das Männchen ist durchschnittlich 8,1 mm lang und 0,36 mm breit; die Spicula sind lang und dünn und an der Wurzel schwach kolbenförmig verdickt; die Länge beträgt 0,92 mm; die vorderen $^3/_7$ sind getrennt; die hinteren $^4/_7$ aber verwachsen; die beiden Chitinstäbe sind von einer gemeinschaftlichen hyalinen Hülle umgeben; hinten steht ein Angelhaken-artiges Gebilde, das Stiles Barb of spicules nennt und doppelt zeichnet; ich habe es stets nur einfach gesehen. Die Bursa ist eine geschlossene Glocke und in ihrer ausgebreiteten Länge von Stiles in Fig. 126 übersichtlich dargestellt; sie wird jederseits gestützt von 5 Rippen, von denen die 3. und 5. verdoppelt sind; die 1., dorsale, hat ein gegabeltes Ende, die 2. ist dünn, die 3. die breiteste; nicht gesehen

hat Stiles den ventralen Lappen (Fig. 3 *v*, Fig. 4), der durch eine Mittellinie geteilt und jederseits durch 2 Rippen gestützt wird, eine breitere, welche sich hakenförmig nach innen umbiegt, und eine dünnere, die gebogen bis ans Ende verläuft; dorsal von diesem ventralen Lappen liegt die von 2 hakenförmigen Chitinstücken gestützte Kloakenöffnung (Stiles, Fig. 126, opening of cloaca). Der Hoden erfüllt in reichen Windungen den Körper und läßt nur das vordere Siebentel desselben frei.

Das Weibchen erreicht eine durchschnittliche Länge von 10,4 mm bei einer Breite von 0,43 mm; der kegelförmige, am Ende abgerundete Schwanz nimmt $^1/_{53}$ der Gesamtlänge ein; 0,031 mm vom Hinterende stehen 2 kleine, von Stiles nicht erwähnte, nach hinten gerichtete Papillen (Fig. 5). Die Vulva mündet vor der Körpermitte und teilt die Länge von vorn nach hinten im Verhältnis von 2 : 3; die sehr zahlreichen Schlingen des Uterus und der Ovarien lassen vorn $^1/_{10}$, hinten $^1/_{26}$ der Körperlänge frei; die Eier sind 0,065 mm lang und 0,039 mm breit; sie enthalten einen entwickelten Embryo.

Der Nematode kommt vor im südöstlichen Nordamerika und den benachbarten Inseln, in Virginia und Texas, auf Porto Rico und Cuba im Darm des Menschen; ich habe ihn im Darm von *Simia troglodytes* aus Westafrika gefunden. Neuerdings hat Looss die Art in Menschen (Zwergen) in Afrika gefunden (Lancet. 1905. Vol. II. p. 430—431).

Der Parasit ruft die schwersten Erscheinungen hervor, weit schlimmere als unser *Ankylostomum duodenale* der Bergarbeiter; im südöstlichen Nordamerika ist fast die ganze Bevölkerung von ihm befallen; er hemmt die körperliche und geistige Entwickelung der Kinder; Patienten von 20—23 Jahren gleichen 11—16-jährigen Kindern; er ruft eine Anämie und Kachexie hervor, die früher auf Malaria zurückgeführt wurde. Neuerdings hat A. Stahl die verderbliche Wirkung des Parasiten auf Porto Rico geschildert (Boletin soc. med. Porto Rico. Ann. IV. 1906. No. 44. p. 115—117).

Genus *Necator.*

Stiles stellte die Art 1902 in das Genus *Uncinaria,* 1903 in das von ihm neu gegründete Genus *Necator.* Eine Diagnose dieser Gattung gab Looss 1905 in seiner Monographie von *Ankylostomum duodenale* (p. 28), wo er sagt: "Mouth capsule comparatively small, protuberant and almost globular; its edge armed with cutting plates similar to those in *Uncinaria;* the aperture of the dorsal gland on the top of a cone which projects from the dorsal wall freely into the cavity of the capsule; at the base of the cone there is, on each side, a chitinous plate freely projecting into the buccal cavity. Genital tubes apparently still longer than in Agchylostoma, their coils more numerous but smaller and less regular than in that genus."

Daran wäre richtigzustellen, daß am Grunde der Mundkapsel jederseits nicht 1, sondern 2 seitliche Zähne stehen; es wäre hinzuzufügen, daß die Oeffnung der Mundkapsel viereckig ist, im Gegensatz zu der runden des nahe verwandten Genus *Bunostomum* Railliet; auch hier finden wir seitliche Rippen der Mundkapsel und am Grunde derselben 5 Zähne, 1 medianen dorsalen und jederseits 2 laterale, mehr ventral stehende; gänzlich anders gebildet aber ist die männliche Bursa beider Gattungen, und daher wäre in die Gattungsbeschreibung von *Necator* noch aufzunehmen: Männliche Bursa rings geschlossen, jederseits gestützt von 5 Rippen, von denen die 1. am Ende gegabelt, die 3.

und 5. verdoppelt sind, ventral in der Höhe der Kloakenöffnung ein jederseits von 2 Rippen gestützter unpaarer Mittellappen; Spicula hinten verwachsen, am Ende mit einem Widerhaken.

Bunostomum radiatum Schneider.

Fig. 6—8.

Strongylus radiatus Schneider. (Monogr. d. Nematoden. Berlin 1866. p. 139.)
Bunostomum phlebostomum Railliet. (Compt. rend. soc. biol. T. LIV. Paris 1902. p. 108—109.)
Ankylostomum radiatum Stossich. (Annuar. mus. zool. Univers. Napoli. N. ser. Vol. I. 1904. No. 15. p. 3. tab. I. fig. 7—9.)

Vermutlich gehört hierher:

Ankylostomum bovis Ströse. (Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. u. vergl. Pathol. Bd. XXI. 1894. p. 110—114. Tab. I.)
Ankylostomum bovis Scheben. (Fortschr. d. Veterinärhyg. Berlin 1906. p. 1—12), wo eine die Darmwand bewohnende *Ankylostomum*-Larve beschrieben wird.

Die Art lebt im Darm von *Bos taurus* und *Bos indicus* in Deutschland, Italien, Frankreich, Ostindien und Kamerun und scheint sehr selten zu sein, denn in der Literatur sind die Beschreibungen nur an den wenigen angegebenen Stellen zu finden. Vielleicht lebt die Art auch in Nordamerika; meine Bemühungen, von dort Material zu erhalten, waren vergeblich.

Herr Dr. Collin hatte die Freundlichkeit, mir die Exemplare zu schicken, welche das kgl. zoologische Museum in Berlin besitzt; es waren 3, 1 Männchen und 2 Weibchen, die aus Buca in Kamerun stammten. Meine Beschreibung kann daher nur unvollkommen sein, da es mir nicht möglich war, Schnittserien anzufertigen; der genauen Beschreibung Railliets möchte ich nur einige Abbildungen beifügen, die es noch nicht gibt, und die von ihm neu aufgestellte Gattung mit *Necator* vergleichen.

Cuticula quergeringelt, Kopfende nach der Rückenfläche gebogen; Nackenpapillen und Nervenring ähnlich wie bei *Necator americanus;* Mundkapsel 0,24 mm lang und 0,25 mm breit; wie bei *Necator* fehlen am Rande der Mundkapselöffnung Haken, wie sich solche bei *Ankylostomum duodenale* finden; am Grunde der Mundkapsel stehen 5 Zähne, 1 dorsaler, unpaarer, kegelförmiger (Fig. 6 u. 7a) und mehr ventral rechts und links je 2, von denen die dem dorsalen genäherten, von der Medianlinie gesehen, ihre Spitzen der Mitte zuneigen (Fig. 6b), während die beiden ventralen, von der Fläche gesehen, beilförmig erscheinen (Fig. 6c); die Wandung der Mundkapsel ist von Rippen gestützt, von denen die ventralen breiter sind (Fig. 6); die Oeffnung der Mundkapsel ist kreisrund (Fig. 7); die Länge des Oesophagus beträgt in beiden Geschlechtern $^1/_{14}$ der Gesamtgröße; die Halsdrüsen reichen 1,14 mm weit nach hinten.

Das Männchen ist 17,7 mm lang und 0,42 mm breit; die sehr langen Spicula messen 4,1 mm; die Bursa besteht aus 2 großen seitlichen Lappen mit einem mittleren dorsalen Vorsprung, der in der Medianlinie eingebuchtet ist (Fig. 8); ein ventraler Teil fehlt; 3 seitliche Rippen entspringen von einem gemeinschaftlichen Stamm; die 2. und 3. liegen eng aneinander; die unpaare Mittelrippe entsendet 2 lange Seitenäste, die beiden Endäste endigen in 3 Zweige, von denen der mittlere der längste ist und der äußere am wenigsten weit nach hinten reicht (Fig. 8); weiteres konnte ich nicht erkennen.

Das Weibchen hat eine Länge von 24,5 mm und eine Breite von 0,65 mm; das Schwanzende, das hinter dem Anus verdünnt und kegelförmig verjüngt ist, nimmt $^1/_{62}$ der Gesamtlänge ein; die Vulva liegt vor der Mitte und teilt den Körper im Verhältnis von 13 : 18 von vorn nach hinten; die Eier sind 0,083—0,088 mm lang und 0,047—0,048 mm breit.

Vermutlich gehört eine Larve hierher, die Ströse 1894 unter dem Namen *Ankylostomum bovis* beschrieb; sie ist 2,83—3,85 mm lang und 0,16 mm breit und hat eine Mundkapsel, an deren Grunde dorsal ein kegelförmiger Zahn steht; Haken an der Mundkapselöffnung fehlen. Später wurde die Ansicht ausgesprochen, diese Larve gehöre nicht zu *Ankylostomum*, sondern zu *Oesophagostomum*, was aber der Kopfbildung nach ganz ausgeschlossen ist; Scheben wies nach, daß in der Darmwand der Rinder sowohl durch *Ankylostomum*- wie durch *Oesophagostomum*-Larven Knötchenbildung hervorgerufen wird; diese *Oesophagostomum*-Larven in Knötchen des Rinderdarmes sind aber bisher nur in Nordamerika gefunden, während die in Europa an diesem Ort vorkommenden Larven zu *Ankylostomum* gehören. Ein vorübergehender Aufenthalt der Larven der Strongyliden in der Darmwandung ihrer Wirte ist bekanntlich vielfach beobachtet, so bei *Strongylus armatus* der Pferde, nach Smidt bei *Strongylus ovatus* in *Hylobates syndactylus* und *Hylobates niger*, bei *Oesophagostomum columbianum* Curtice der Schafe und Rinder, bei *Oesophagostomum dentatum* Rud. der Schweine, gelegentlich auch bei *Ankylostomum duodenale* Dub. des Menschen.

Was hier als Rippen der Mundkapsel bezeichnet ist, nennt Schneider Zähne; er sagt: „Um die Mundöffnung stehen 4 Zähne, 2 jederseits, ihre Basis liegt tiefer in der Kapsel; der freie Rand je zweier Zähne bildet eine ununterbrochene Wellenlinie,“ bei der Beschreibung von *Strongylus cernuus*; bei *Strongylus radiatus* spricht er von 6 Zähnen an der hinteren Oeffnung der Mundkapsel; und von *Strongylus criniformis* sagt er: „Kopfbildung schließt sich ganz an *Strongylus cernuus* an“.

Genus *Bunostomum*.

Kopfende nach der Rückenfläche gebogen; Mundkapsel mit runder Oeffnung; Wandung der Kapsel seitlich von Rippen gestützt, hakenförmige Zähne, wie sie bei *Ankylostomum duodenale* gefunden werden, fehlen; am Grunde der Mundkapsel stehen 5 Zähne, dorsal 1 unpaarer, mehr ventral jederseits 2 andere; männliche Bursa flügelförmig, jederseits mit (?) 3 Rippen, von denen die 2. und 3. aneinander liegen; unpaare Mittelrippe mit 2 langen Seitenästen, am Ende gegabelt und jeder Gabelast mit 3 Endlappen; Spicula sehr lang.

Schneider rechnete die Ankylostomen zu dem Genus *Strongylus*, während doch schon Diesing mit Recht die Gattung *Dochmius* der Gattung *Strongylus* gegenübergesetzt hatte. Neuerdings aber ist *Ankylostomum* getrennt in *Ankylostomum* s. str., *Uncinaria*, *Diploodon*, *Monodontus*, *Agriostomum*, *Globocephalus*, *Strongylacantha*, *Charaeostomum*, *Bunostomum*, *Necator*.

Daß eine Aufstellung so vieler Gattungen für eine Zahl von etwa 25 Arten richtig ist, glaube ich nicht; will man für 2 Arten, die anatomische Unterschiede zeigen, 2 Gattungen bilden, so muß man ungefähr ebensoviele Gattungen wie Arten aufstellen, denn anatomisch ganz gleiche Arten gibt es kaum; der Gattungsbegriff wird mit dem Artbegriff verwechselt, und statt bei Aufstellung der Gattungen nach den gemeinsamen Charakteren zu suchen, sucht man nach den Unterschieden.

Seit einigen Jahren wird das im Hunde vorkommende *Ankylostomum A. caninum* Ercolani genannt, das früher *A. trigonocephalum* Rudolphi hieß; Railliet fand, daß letzterer Name identisch sei mit *Ankylostomum cernuum* Creplin der Schafe; wenn typische, von Rudolphi herrührende als *Strongylus trigonocephalus* bezeichnete Exemplare als *Ankylostomum cernuum* Creplin erkannt wurden, so liegt die Vermutung nahe, daß hier eine Verwechselung stattgefunden hat, denn *A. cernuum* ist ein Parasit aus Pflanzenfressern, während Rudolphi seinen *Strongylus trigonocephalus* stets nur als Parasit von *Canis familiaris* anführt.

Looss hat die Wissenschaft im Jahre 1905 mit einer Monographie von *Ankylostomum duodenale* beschenkt, die so ausgezeichnet ist, daß sie geradezu unübertrefflich genannt zu werden verdient; zu bedauern ist nur das Eine, daß der Verf. sich veranlaßt sieht, was er eingehend motiviert, den als unorthographisch erkannten Namen Dubinis *Agchylostoma* beizubehalten. Dubini hat damit gezeigt, daß er der griechischen und der lateinischen Sprache nur unvollkommen mächtig ist; die Späteren haben den Namen für unannehmbar erklärt und ihn verschiedentlich abgeändert; man liest *Ancylostoma*, *Anchylostoma*, *Ancylostomum*, *Anchylostomum*, *Anchilostoma*, *Ankylostoma*, *Ankylostomum*. *Anchylostoma* ist ebenso falsch wie *Agchylostoma*, denn das ch gehört nach dem griechischen Worte, nach dem das lateinische gebildet ist, nicht hinein.

Nun ist die Benennung eines Autors doch kein Sacrosanctum, daß die späteren Forscher verpflichtet wären, sie nachzuschreiben, auch wenn sie notorisch falsch gebildet ist; werden doch Gattungs- und Artnamen, von denen bekannt wird, daß sie bereits anderweitig gebraucht sind, ohne weiteres gestrichen und durch andere ersetzt; ebenso müssen orthographisch unmögliche als der Wissenschaft unwürdig verändert werden, wie es früher mit dem Worte *Agchylostomum* stets geschehen ist; übrigens glaubt Looss selber nicht ganz an die Möglichkeit des Wortes *Agchylostoma*, denn im Text seines schönen Werkes liest man an vielen Stellen *Ankylostoma*.

In seltsamem Widerspruch mit diesem Glauben an die Unantastbarkeit früherer Namen, die so weit geht, daß man selbst deren orthographische Fehler nachschreibt, steht das Verfahren, daß man willkürlich solche hineinkorrigiert und ihren Sinn ändert.

Der Name *Strongylus paradoxus* Mehlis wird geändert in *Strongylus suis* Rudolphi; Rudolphi bezeichnet das Tier als *Strongylus Suis* und setzt es unter die Species *dubiae;* eine Beschreibung fehlt, es ist ein nomen nudum, *Suis* soll kein Artname sein, sondern bedeutet einen *Strongylus* aus *Sus*, dessen Untersuchung, Beschreibung und definitive Benennung noch aussteht; was ein wissenschaftlicher Name zu bedeuten hat, bestimmt aber lediglich derjenige, der ihn aufgestellt hat. Die nach den neuen Nomenklaturgesetzen geübte Aenderung der Schreibweise von Suis in suis ist ebenso verwerflich, denn der zoologische Name des Schweines ist *Sus scrofa* und der Genitiv von Sus wird Suis geschrieben; bei Eigennamen von Personen wird ebenso verfahren; auch hier korrigiert man willkürlich orthographische Fehler hinein, und wenn man eine Art etwa nach de Man oder van Beneden benennen wollte, müßte man, wenn man dieser Regel folgen wollte, de mani und van benedeni schreiben.

Oesophagostomum dentatum Rud.

Railliet, Traité de zoologie méd. 2. éd. Paris 1895. p. 418. Fig. 279. p. 451—452.

Herr Prof. Blasius schickte mir neben der erwähnten Art auch zahlreiche Exemplare von *Oesophagostomum dentatum* Rud. aus dem Darm von *Sus scrofa* in Porto Rico.

Die Beschreibung dieser Art kann ich in einigen Punkten vervollständigen.

Die Cuticula ist in Abständen von 0,013 mm quergeringelt; am Kopfende ist sie stark verdickt und dicht hinter der Mitte des Oesophagus mit einer tiefen, quer verlaufenden Einschnürung versehen, welche auf die ventrale Hälfte beschränkt ist; in der Ventrallinie mündet in diese Kerbe der Porus excretorius; sie teilt die Länge des Oesophagus von vorn nach hinten im Verhältnis von 5 : 4; die Mundöffnung ist von einem Kranze konvergierender Lamellen umgeben; dahinter stehen 6 Papillen im Kreise, von denen die 2 lateralen kurz und vorn gerade abgeschnitten sind, die 4 intermedialen aber kegelförmig und prominent; 2 Nackenpapillen stehen in den Seitenlinien so, daß sie die Oesophaguslänge von vorn nach hinten im Verhältnis von 3 : 7 teilen; die beiden Halsdrüsen sind mächtig entwickelt; sie sind hinten keulenförmig verdickt und sind von $^1/_4$ Körperlänge; der Oesophagus schwillt hinten kolbenförmig an und nimmt beim Männchen $^1/_{21}$, beim Weibchen $^1/_{24}$ der Gesamtlänge ein; der Darm ist schwarz pigmentiert.

Die durchschnittliche Länge des Männchens beträgt 9,7 mm, die Breite 0,48 mm; der Hoden reicht vorn bis zum Ende der Halsdrüsen; die Rippen der männlichen Bursa sehe ich genau so, wie Railliet sie Fig. 279 zeichnet; seitlich stehen je 4 Rippen, von denen die 1. und 3. verdoppelt sind; der unpaare Mittellappen wird von einer Rippe gestützt, die sich gabelt, jeder Gabelast ist am Ende zweigeteilt und der innere Zweig ist der längere; die 1,2 mm langen Spicula sind hinten verwachsen und am Ende abgerundet; sie haben eine breite, hyaline Hülle.

Bei dem 11,3 mm langen und 0,53 mm breiten Weibchen mündet die Vagina ganz hinten; sie teilt den Körper im Verhältnis von 15 : 1; der Schwanz ist kegelförmig und hat $^1/_{41}$ Körperlänge; am Ende ist er abgerundet; die Gegend der Vulva tritt rundlich vor; die beiden Uteri verlaufen nebeneinander nach vorn; die Eier sind 0,052 mm lang und 0,039 mm breit.

Als Vaterland war bisher Deutschland, Oesterreich, Frankreich, Nordamerika und Brasilien bekannt.

In den Mitteilungen aus dem zoolog. Museum Berlin. Bd. III. 1906. p. 244 beschrieb ich einen *Gordius pallidus* als neu; versehentlich habe ich denselben Namen in den Proceed. zool. soc. London. 1906. p. 557 für eine andere Art gebraucht, und ändere ich den Namen für die letztere Art in *Gordius semilunaris*.

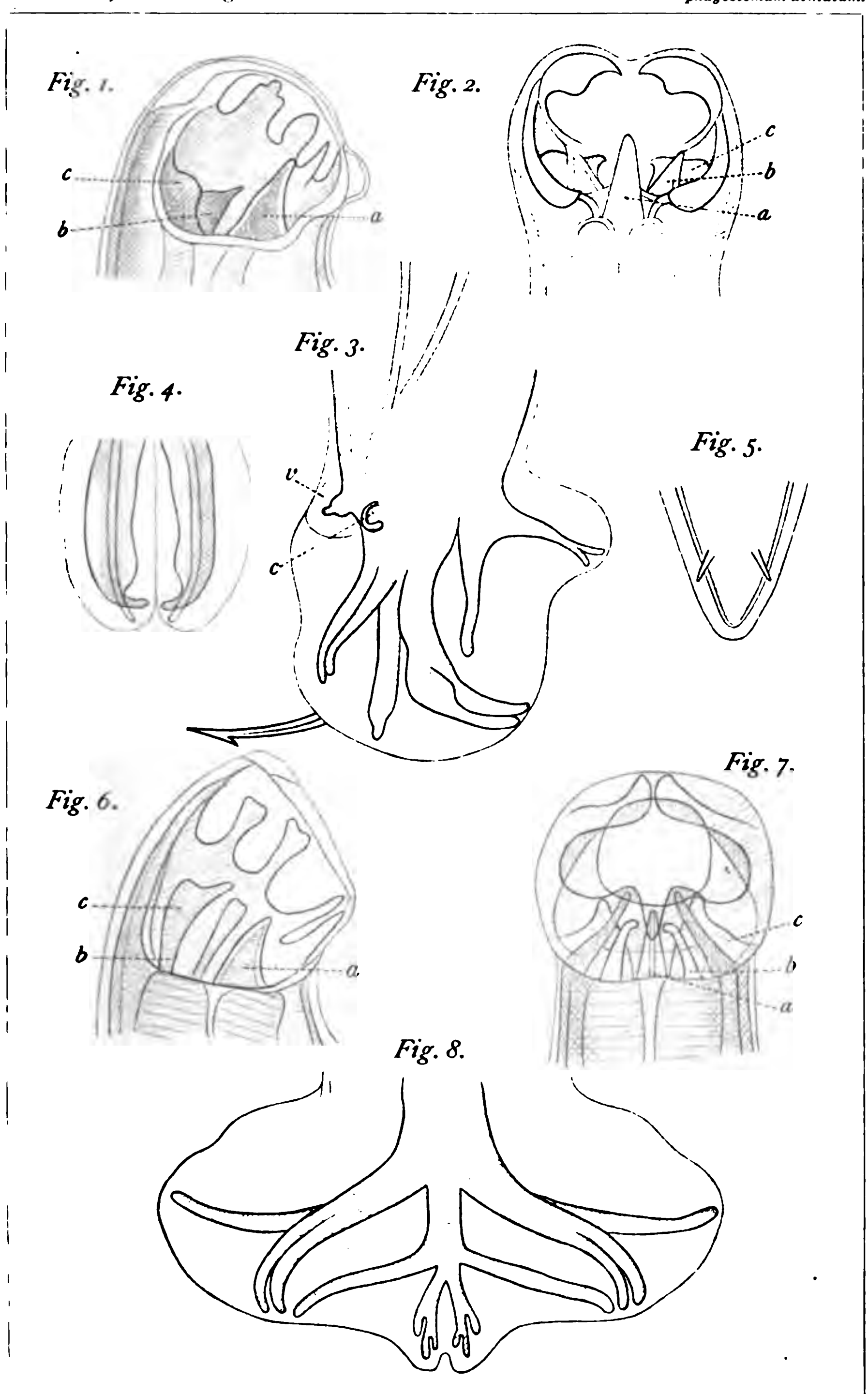
Erklärung der Abbildungen.

a Mittlerer, unpaarer Zahn, b und c die ventralen, paarigen.

Fig. 1—5. *Necator americanus*. *1* Kopfende von links, *2* Längsschnitt des Kopfendes, *3* männliches Schwanzende von links, *v* mittlerer Ventrallappen, *c* Kloakenmündung, *4* mittlerer Ventrallappen, stärker vergrößert, *5* weibliches Schwanzende.

Fig. 6—8. *Bunostomum radiatum*. *6* Kopfende von links, *7* Kopfende von der Dorsalseite, *8* männliche Bursa, soweit sie erkennbar war.

— — — — — —


Fig. 1.
c
b
a
Fig. 2.
c
b
a
Fig. 3.
v
c
Fig. 4.
Fig. 5.
Fig. 6.
c
b
a
Fig. 7.
c
b
a
Fig. 8.

Ueber die Antikörper des Meningococcus.

[Aus dem staatlichen Laboratorium für Schiffs- und Tropenhygiene in Triest].

Von Sanitätsinspektor Dr. **Markl.**

Die Literatur über die Immunität bei der Genickstarre ist weder umfangreich noch erschöpfend. Unter den Schwierigkeiten, welchen die Forschung auf diesem Gebiete begegnet, ist in erster Linie die geringe Vitalität und Tierpathogenität des Meningococcus zu nennen. Ich ergriff daher die Gelegenheit, als mir im November v. J. ein anscheinend recht virulenter Meningococcus in die Hände kam, um die Arbeiten von Albrecht und Ghon, Bonhoff, Jäger und Lepierre nachzuprüfen.

Den zur Untersuchung verwendeten Stamm habe ich aus dem Meningealexsudate anläßlich der Obduktion eines Steuermannes isoliert, welcher unter allgemeinen Symptomen (Erbrechen, Fieber) erkrankte und nach 2-tägiger Krankheit, in welcher nur Fiebererscheinungen, Pulsbeschleunigung und Bewußtlosigkeit ausgeprägt waren, an Kollaps gestorben war.

Der Fall war auch dadurch interessant, daß Meningokokken intra vitam im Blute zirkulierten und kulturell nachgewiesen wurden.

Der isolierte Mikroorganismus war ein Diplococcus von Kaffeebohnenform, unbeweglich, gramnegativ. Die ersten Kulturen auf gewöhnlichem, schwach alkalischem Agar zeigten spärliche, zarte, transparente Kolonien. Nach mehreren Uebertragungen bildete sich ein ziemlich üppiger grauer Rasen aus. In Bouillon war leichte Trübung und geringer Bodensatz, auf schräg erstarrtem Blutserum ein gelblichbrauner Rasen zu beobachten. Milch wurde nicht geronnen.

Der Stamm war sehr anspruchsvoll an die Temperatur; schon bei geringen Schwankungen unterhalb 37 ° C blieb das Wachstum aus. Die Lebensfähigkeit der Kokken war selbst in gegen Austrocknung geschützten und bei 37 ° C gehaltenen Kulturen von sehr beschränkter Dauer: nach 5 Tagen gingen noch einige Kolonien auf, nach 9 Tagen war es nicht mehr möglich, mit Erfolg zu überimpfen.

Frisch aus der Leiche isoliert tötete die Kultur bei intraperitonealer Einverleibung in Mengen von 2 Oesen binnen 12 Stunden weiße Mäuse. Das anatomische Bild bot nichts Charakteristisches dar: Hyperämie des subkutanen Bindegewebes, spärliches viscides Exsudat in der Bauchhöhle, kleiner Milztumor. Im Blut waren sehr spärlich, im Peritonealexsudate massenhaft Diplokokken mikroskopisch nachweisbar, die Kultivierung derselben gelang aber nicht.

Um die Virulenz der Kultur zu erhalten, habe ich sie jeden 2. Tag überimpft. Nur ausnahmsweise wurde aus äußeren Gründen erst nach 4—5 Tagen übertragen. Die Vitalität der auf diese Weise gewonnenen Generationen war aber derart abgeschwächt, daß 2—3 Tage alte Kulturen nicht mehr überimpfbar waren. Im weiteren Verlaufe der alltägigen Ueberimpfung stellte sich zwar die ursprüngliche Lebensfähigkeit der Kultur wieder ein, so daß man wieder nach 4—5 Tagen mit Erfolg überimpfen konnte, die Virulenz scheint jedoch abgenommen zu haben. Von der 143. Generation meiner Kultur töteten 2 Oesen nicht mehr sicher

die Mäuse: die sicher tötliche Dosis war doppelt so groß, trotzdem einzelne Mäuse noch nach Injektion von einer Oese binnen 24—28 Stunden eingingen.

Das Peritonealexsudat der durch die höheren Generationen getöteten Mäuse war ärmer an Kokken als das Exsudat der Tiere, welche mit der frisch isolierten Kultur geimpft worden waren. Die meisten Kokken färbten sich sehr schwach und hatten verwischte Konturen, woraus man schließen muß, daß sie der Degeneration verfallen waren.

Bei den mit der frisch isolierten Kultur geimpften Tieren war eine Inkubation der Krankheit vorhanden; sie fehlte aber bei jenen Tieren, welchen höhere Generationen einverleibt wurden. Diese wurden bald nach der Injektion sichtlich krank und zwar auch dann, wenn diese subkutan erfolgte.

Aus diesen Tatsachen muß man den Schluß ziehen, daß die frisch isolierte Kultur für Mäuse zwar in geringem Grade, aber doch infektiös war, während höhere Generationen derselben im Tierkörper nicht mehr vermehrungsfähig waren und nur eine toxische Wirkung entfalteten.

Auffallend war die fast unmittelbar nach der Injektion eintretende krankmachende Wirkung älterer nicht mehr entwicklungsfähiger Agarkulturen, welche vermuten ließ, daß die Kokken ein lösliches Gift produzieren. Aber Filtrate von mehrtägigen Bouillonkulturen erwiesen sich sehr wenig giftig; Kaninchen vertrugen Dosen von 5 ccm ohne selbst nach Wochen und Monaten die geringsten Störungen zu zeigen. Mäuse und Meerschweinchen gingen aber nach Dosen von 0,5—2 ccm nach 2—8 Wochen an Abmagerung und allgemeiner Atrophie, also unter Erscheinungen zu Grunde, welche wir der Wirkung der Endotoxine zuschreiben.

Behufs Gewinnung des Immunserums habe ich Kaninchen, Ziegen und Hammel teils mit mehrere Tage alten, nicht mehr entwicklungsfähigen, teils mit lebenden 24-stündigen Agarkulturen behandelt.

Ueber das Ziegen- und Hammelserum will ich vorläufig noch kein abschließendes Urteil fällen, weil diese Tiere erst später in Behandlung genommen wurden und die bisher erzielten Resultate mit den jüngst publizierten Arbeiten von Kolle und Wassermann und Jochmann nicht ganz übereinstimmen. Hingegen glaube ich die Untersuchungen an Kaninchen für abgeschlossen betrachten zu können, da diese Tiere über 6 Monate in Behandlung waren und im Laufe dieser Zeit über 70 Agarkulturen einverleibt erhielten.

Das Serum der so intensiv immunisierten Kaninchen agglutinierte zwar den Meningococcus, hatte aber weder präventive noch heilende Wirkung im Tierversuche und ließ bei dem Bordet-Gengous-Komplementablenkungsversuche die Anwesenheit von Ambozeptoren nicht erkennen.

Die Produktion der Agglutinine und der Verlauf der Agglutinationsreaktion ist bei Meningococcus entschieden anders, als bei Bakterien der Coli- oder Cholera-Gruppe. Während nämlich bei diesen durch Einverleibung von verhältnismäßig geringer Bakterienmenge Agglutinine reichlich ausgelöst werden, bedarf es bei Meningococcus starker und wiederholter Reize, um Agglutinine in nennenswerter Menge zum Vorscheine zu bringen.

Bei Bakterien der Coli- und Cholera-Gruppe ist die Agglutination zumeist binnen 2 Stunden vollzogen, bei Meningococcus dauert es stundenlang, bis die Reaktion zum Abschluß gelangt.

Das eine von meinen Kaninchensera agglutinierte nach 2 Stunden in Verdünnungen 1:20 und 1:25 schwach, in höheren Verdünnungen gar nicht. Nach 6 Stunden war die Agglutination in Verdünnungen 1:20 und 1:25 vollzogen, in Verdünnung 1:50 angedeutet. Nach 24 Stunden waren Verdünnungen 1:20, 1:25 und 1:50 stark, 1:100 schwach agglutiniert; nach 30 Stunden zeigte noch die Verdünnung 1:200 schwache Agglutination. Dieser langsame Verlauf der Agglutinationsreaktion läßt vermuten, daß die Avidität zwischen der agglutinierenden und agglutinierbaren Substanz des Meningococcus viel schwächer sein dürfte als es bei anderen Bakterien der Fall ist.

Zum Nachweis der Immunkörper im Serum habe ich vorerst wie Bonhoff und Lepierre den Tierversuch herangezogen. Es gelang jedoch selbst durch höhere Serumdosen (0,5 ccm) nicht, Mäuse gegen die einfache tötliche Kulturdosis zu schützen.

Der negative Ausfall des Tierversuches schien jedoch die Möglichkeit doch nicht auszuschließen, daß in dem Serum Immunkörper enthalten sein könnten, weil meine Kultur, wie ich schon erwähnt habe, nicht an Infektion, sondern an Intoxikation Mäuse tötete, gegen welche auch andere präventive Sera sich als unwirksam erwiesen haben.

Uebrigens war der Schutzwert auch des Jochmannschen Serums gegenüber sehr virulenten Kulturen kein hoher (0,1 ccm Serum schützte gegen die doppelte tödliche Dosis), so daß immerhin die Möglichkeit noch bestand, daß auch mein Serum Immunsubstanzen enthalte. Ich wendete daher, wie Kolle und Wassermann, den Bordet-Gengou-Komplementablenkungsversuch an, um Immunkörper nachzuweisen. Während aber Kolle und Wassermann als Antigen wässerigen Meningokokkenextrakt benützten, verwendete ich nach der Originalmethode Aufschwemmung frischer Agarkulturen in 0,9-proz. Kochsalzlösung. Ich halte die Modifikation Kolle-Wassermanns bei Meningokokken nicht für opportun, weil destilliertes Wasser, mit welchem der Extrakt bereitet wird, für die als Indikator dienenden Blutkörperchen nicht indifferent ist, und weil der wässerige Extrakt Kolle-Wassermanns, wie aus ihren Protokollen hervorgeht, an und für sich schon etwas komplementablenkend wirkte, was bei der Meningokokkenaufschwemmung in isotonischer Kochsalzlösung nicht der Fall ist.

Trotzdem ich diese Versuche mit mehreren Seris von mit Meningokokken behandelten Tieren wiederholte, ist es mir nicht gelungen, eine Ablenkung des Komplements wahrzunehmen, aus welcher man auf die Anwesenheit von Ambozeptoren schließen könnte.

Auf Grund dieser Versuche halte ich dafür, daß der von mir isolierte Meningokokkenstamm nicht die Eigenschaft besitzt, im Tierkörper Immunstoffe in nennenswerter Menge auszulösen. Diese Vermutung wird übrigens auch durch das Ergebnis direkter Immunierungsversuche an Mäusen gestützt. Ich habe schon erwähnt, daß die sicher tödliche Dosis von höheren Generationen meines Stammes doppelt so groß war als von der frisch isolierten Kultur. Einzelne Mäuse gingen aber dennoch selbst an geringeren Mengen ein, als die Dosis letalis minima der frisch isolierten Kultur war. Diese Erscheinung inkonstanter Virulenz haben auch andere Autoren beobachtet.

Man könnte glauben, daß einzelne Mäuse von Hause aus eine höhere Immunität gegen Meningokokken besitzen, welche durch Einverleibung von Kulturen noch künstlich erhöht werden könnte. Das scheint aber nicht der Fall zu sein, denn auch solche widerstandsfähigere Mäuse, die

gewisse Mengen Meningokokken anstandslos vertrugen oder höchstens mit vorübergehender Krankheit reagierten, unterlagen, einige Tage nachher geimpft, der Dosis letalis minima gerade so wie Kontrolltiere.

Es scheint daher die verschiedene Pathogenität der Meningokokken für Mäuse weniger durch eine Immunität als durch höhere Resistenzfähigkeit gegen Gifte, bezw. durch höheres Vermögen, dieselben auszuscheiden, bedingt zu sein.

Obwohl meine bisherigen Untersuchungen über das Vorkommen von Ambozeptoren in Serum von mit Meningokokken behandelten Tieren die positiven Befunde von Bonhoff, Lepierre, Kolle, Wassermann und Jochmann nicht bestätigen können, will ich in diesem Widerspruche nichts anderes erblicken, als daß es nicht immer und nicht leicht gelingt, gegen Meningokokken Immunsubstanzen zu gewinnen. In dieser Annahme werde ich durch die Arbeiten von Kolle-Wassermann und Jochmann noch unterstützt, da es auch diesen Autoren nicht gelungen ist, hochwertige Immunsera zu gewinnen.

Die Aussichten für eine erfolgreiche Serumbehandlung der epidemischen Genickstarre scheinen mir daher nicht vielversprechend zu sein.

Die Bestätigung der Angaben Ruppels, daß durch Züchtung des Meningococcus auf einem flüssigen Nährboden die Virulenz hochgradig gesteigert, und mit den nun für alle gebräuchlichen Versuchstiere virulent gewordenen Kulturen ein hochwertiges Immunserum gewonnen werden kann, ist noch ausständig.

Anmerkung bei der Korrektur: Die vorerwähnten Versuche wurden im Juli d. J. abgeschlossen. Seither habe ich mit demselben Stamme andere Sera gewonnen, in welchen der Nachweis von Antikörpern mittels der oben beschriebenen Methode gelang. Auf die Umstände, von welchen die Bildung und der Nachweis von Antikörpern des Meningococcus abhängt, kann ich hier nicht näher eingehen, sondern muß die Erläuterung dieser Verhältnisse einer späteren Publikation vorbehalten.

Literatur.

Albrecht und Ghon, Wiener klin. Wochenschr. 1901.
Bonhoff, Münchener med. Wochenschr. 1901.
Dieudonné, Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XLI. No. 4.
Jäger, Zeitschr. für Hygiene. Bd. XLIV. 1903.
Jochmann, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 20.
Kolle-Wassermann, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 16.
Lepierre, Journ. de Physiol. et Path. gén. 1903.
Ruppel, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 34.
Vansteenberghe et Grysez, Annales Pasteur. 1906. No. 1.
Weichselbaum, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann Bd. III u. IV.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Cerebrospinalmeningitis und ihre Serumbehandlung.

[Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New York.]

Von **Simon Flexner**, M. D.

Im Winter 1904 und Frühjahr 1905 herrschte in Groß New York die Cerebrospinalmeningitis epidemisch. Seitdem kommen bis jetzt sporadische Fälle von Meningitis immer noch vor. Frühjahr 1905 ernannte das Health-Department von New York eine Kommission, um gemeinsam mit der Verwaltung die Epidemie zu erforschen. Als Mitglied dieser Kommission stellte Verfasser Versuche mit der Meningitis an, die den vorliegenden, vorläufigen Bericht zeitigten. Der ausführliche Bericht über diese Versuche soll in einer späteren Nummer des Journal of Experimental Medicine erscheinen.

Die bakteriologische Untersuchung des durch Lumbalpunktionen und Autopsieen gewonnenen Exsudates der Meningen bewies, daß die Epidemie durch den Weichselbaumschen Diplococcus intracellularis hervorgerufen war. Ich hatte fast nur mit diesem Mikroorganismus zu tun. Meine Kulturen stammten von Dr. E. K. Dunham, Dr. Martha Wollstein und Dr. E. P. Bernstein. Von Dr. Dunham erhielt ich eine große Anzahl Kulturen, die er aus der Cerebrospinalflüssigkeit und schleimigen Nasenmembranen von Patienten isoliert hatte; von Dr. Wollstein bekam ich im Babies Hospital isolierte Kulturen, und Dr. Bernstein lieferte mir Kulturen von Kranken aus dem Mt. Sinai-Hospital. In einigen wenigen Fällen isolierte ich mir selbst aus frisch abgezapfter Cerebrospinalflüssigkeit. Die Mehrzahl der untersuchten Stämme von Diplokokken oder ähnlichen Mikroorganismen konnten nicht an Tieren geprüft werden. Die Zahl der Kulturen, deren biologische Eigenschaften untersucht wurden, war größer als die derjenigen, die auf ihre Pathogenität geprüft werden konnte. Der Diplococcus intracellularis besitzt biologische Eigenschaften, die ihn mit einer ziemlichen Sicherheit zu identifizieren gestatten. Das Aussehen der Kulturen auf den gewöhnlichen Nährböden, die Temperaturgrenzen für die Entwickelungsfähigkeit, die Wirkung auf verschiedene Zucker, und die unter gewöhnlichen Verhältnissen kurze Lebensfähigkeit dienen alle dazu, den Intracellularis von den übrigen Vertretern der großen Gruppe der gramnegativen Kokken zu unterscheiden. Die kurze Lebensfähigkeit vieler Kulturen des Intracellularis ist eine differentialdiagnostisch hochwichtige Eigenschaft. Viele Stämme, die auf einem günstigen Nährboden gezüchtet sind, leben nicht länger als zwei oder drei Tage, wenn man sie nicht auf einen frischen Nährboden umimpft. Und auch diese Umimpfungen sind nur dann erfolgreich, wenn man eine erhebliche Menge Material in das neue Röhrchen bringt, ein Zeichen dafür, daß nur ein Teil der Kokken noch leben oder zur Vervielfältigung fähig sind. Kräftige, frische Kulturen, 16 bis 24 Stunden alt, färben sich scharf und gleichmäßig. Am zweiten Tage zeigen die Kokken Unregelmäßigkeiten in der Färbung und der Form, wenn sie nicht sorgfältig vor Austrocknung und Temperaturschwankungen bewahrt werden. Drei Tage alte Kulturen zeigen ausgeprägte Degeneration,

und diese nimmt rasch zu mit fortschreitendem Alter, bis endlich nach 5—6 Tagen normale Kokken überhaupt nicht mehr vorhanden sind. Selbst bei sorgfältigster Behandlung überleben die Mehrzahl der Kokken diesen kurzen Zeitraum nicht. Einige wenige Kokken können in sorgfältig aufbewahrten Kulturen viele Monate leben. Das Aussehen alter Kulturen ist charakteristisch. Zu Beginn der Degeneration trifft man angeschwollene, tief gefärbte Kokken zwischen kleineren, aber normalen Formen, die die Farbe weniger stark annehmen als frische Kulturen. Parallel mit dem Fortschreiten der Degeneration tritt ein Verlust der Färbbarkeit mit Kernfarbstoffen und ein Zerfall auf, bis schließlich die Färbbarkeit vollständig verloren gegangen ist und ein formloser Detritus übrigbleibt.

Wenn man eine kräftige Diplokokkenkultur in 0,9-proz. Kochsalzlösung suspendiert, und die Suspension bei 37° C hält, so finden dieselben Veränderungen, aber langsam an den Kokken statt. Da in so einer Flüssigkeit die Verdunstung nur langsam vor sich geht und Aenderungen in der Konzentration infolgedessen nur in geringem Grade stattfinden, degenerieren die Kokken weniger schnell, als an der Oberfläche fester Nährböden. Schließlich degeneriert die Kokkenkochsalzsuspension auch. Wenn jedoch zu einer solchen Salzsuspension wenige Tropfen Toluol hinzugefügt und durch Schütteln mit der Flüssigkeit gemischt werden, wird der Zerfallsprozeß erheblich beschleunigt. Eine solche Suspension ist nach Ablauf von 24 Stunden vollständig zerfallen. Aus dieser Beobachtung kann man schließen, daß der Diplococcus intracellularis ein hochwirksames autolytisches Ferment besitzt, das, sobald die Kokken tot sind, den Zerfall der Mikroorganismen herbeizuführen bestrebt ist. Ich habe wiederholt die Beobachtung gemacht, wenn ich dicke Suspensionen alter Kulturen auf frische Nährböden überimpfte, daß die trübe Flüssigkeit nach wenigen Stunden klar wurde, ein Zeichen, daß die Bakterienleiber sich in der neuen, zur Verdünnung der alten Kultur benützten Flüssigkeit lösten. Ich stellte Vergleichungen an zwischen der Schnelligkeit und dem Grade des Zerfalls der Kokken, der eintritt, wenn die Kokkenkochsalzsuspension toluolisiert und gelegentlich einmal geschüttelt, und wenn sie nicht sofort abgetötet, aber mehrere Tage fortgesetzt geschüttelt wird. Der Zerfall war rascher und vollständiger in der Toluolprobe. Das autolytische Ferment wird durch Erwärmen der Kokken auf 65° C zerstört.

Diese große Neigung des Diplococcus intracellularis, in seinen osmotischen Bedingungen zu wechseln, und womöglich in der Temperatur und Anhäufung von Wachstumsprodukten zu variieren, trennt ihn von einer großen Zahl gramnegativer Diplokokken verschiedener Herkunft. Die Lebensfähigkeit des Diplococcus hängt mit dieser seiner Neigung zusammen. Ich beobachtete zu Beginn meiner Versuche die Tatsache, daß auf Eis gelagerte Kulturen nach weniger als 24 Stunden abgestorben waren. Später stellte ich einige Versuche über die Lebensfähigkeit der Kokken in dicken Kochsalzsuspensionen an, die im Kühlschrank bei Temperaturen zwischen 2 und 4° C gehalten wurden. Dabei waren noch viele lebende Kokken nach fünf Tagen anzutreffen.

Ich stellte mit einer beträchtlichen Anzahl gramnegativer Diplokokken, die von Menschen und Tieren stammten, vergleichende Versuche mit dem Diplococcus intracellularis an. Eine Anzahl davon entstammte der Nasenhöhle von Personen, besonders Kindern, die an epidemischer Genickstarre litten; andere stammten von gesunden Per-

sonen, die mit Genickstarrefällen nicht in Berührung gekommen waren. Einige Stämme des sogenannten Micrococcus catarrhalis wurden mir von anderen Bakteriologen geschickt. In Verbindung mit den Nachforschungen des Department of Health ließ ich meinen Assistenten, Mr. Ward, Haustiere — Katzen und Hunde — untersuchen, die aus Häusern stammten, in denen Fälle von Genickstarre vorgekommen waren. Einige von diesen Tieren gaben Diplokokkenstämme ab, die nach Gram entfärbt wurden. Die Sektion eines Falles von Cerebrospinalmeningitis, an der das Kind in der 6. Krankheitswoche starb, ergab einen gramnegativen Diplococcus, der zu dieser Gruppe gehörte; einige wenige Kolonieen dieses Coccus ließen sich aus den Bronchialdrüsen, den Lungen, dem Antrum und dem verlängerten Mark züchten, welch letzteres mit dickem Exsudat bedeckt war. Keine Kokken und auch keine intakten Leukocyten wurden in Abstrichen des dicken meningitischen Exsudates gefunden. Alle diese Kulturen unterschieden sich von Stämmen des Diplococcus intracellularis dadurch, daß sie der schnellen Degeneration und dem Zerfall nicht verfielen, die ich für jene Mikroorganismen beschrieben habe. Hand in Hand damit ging der weitere Unterschied, daß sie von Anfang an auf Nährböden wuchsen, denen Blutserum in keiner Form zugefügt worden war, und daß sie lange Zeit, oft viele Wochen, lebensfähig blieben. Ferner besaßen sie entweder die Fähigkeit, Zuckerarten zu vergären, gar nicht, oder sie hatten weitergehende oder stärkere fermentative Kräfte als der Intracellularis.

Eine toluolisierte Kochsalzsuspension des Diplococcus intracellularis verfällt, wie gezeigt wurde, schnell dem Zerfall. Wenn man diese Flüssigkeit ihres Toluols durch Verdunsten bei niedriger Temperatur beraubt und zur Entfernung der festen Bestandteile mit großer Geschwindigkeit zentrifugiert, so ist sie toxisch. Diese toxischen Körper gehen durch unglasiertes Porzellan (Berkefeld-Filter) hindurch. Die Giftwirkung dieser Flüssigkeit kann am besten an jungen Meerschweinchen geprüft werden. Wenn man sich Tiere von 125 g oder weniger zum Versuche aussucht, hängt der Giftigkeitsgrad von der Stärke der ursprünglichen Kokkensuspension ab. Wenn man alles, was auf der Oberfläche einer flachen Halbliterflasche[1]) wächst, in 10 ccm Kochsalzlösung suspendiert, ist die innerhalb 18—24 Stunden zum Tode führende Dosis bei intraperitonealer Einspritzung 0,5—1 ccm. Die dadurch geschaffenen Läsionen sind denen bei der Einspritzung von lebenden Kokkensuspensionen ähnlich, nur daß kein Fibrin auftritt.

Die Wirksamkeit dieses Extraktes läßt sich auch noch in anderer Weise zeigen. Seit Bails Arbeit über die sogenannten Aggressine und Wassermanns und Citrons Beobachtung über die Erzeugung von Infektion durch Bakterienextrakte wissen wir, daß man die pathogene Wirkung von Bakterien dadurch verstärken kann, daß man sie mit ihren Produkten zusammen anwendet. Wenn man Meerschweinchen zugleich mit lebenden Kulturen und dem Kokkenautolysat impft, so erliegen sie um so sicherer und zwar nach kleineren Dosen, als Tiere, denen man nur die Kokken beibringt. Intraperitoneale Injektion des Diplococcus läßt bei Meerschweinchen ein Exsudat entstehen, das eine ähnliche Wirkung ausübt wie der Extrakt, indem es die Empfänglichkeit für die Kokken erhöht.

---

1) a one pint flat bottle. Anmerkung des Uebersetzers.

Bei Prüfung an den Laboratoriumsversuchstieren ist der Diplococcus intracellularis ein Mikroorganismus mit geringer und veränderlicher Pathogenität. Kleine Meerschweinchen sind nach meinen Erfahrungen geeigneter als Mäuse, um die Wirkung der Kulturen zu studieren. Entsprechend dem Gewicht, ist die Empfänglichkeit der Meerschweinchen sehr verschieden. Meerschweinchen von 175—200 g erwiesen sich als hochempfänglich für die Kokken im Vergleich mit Tieren von 350—400 g. 250 g schwere Tiere sind noch für diese Versuche zu verwenden, während ausgewachsene Meerschweinchen hochgradig unempfänglich sind.

Nicht alle Diplokokkenkulturen, selbst in der ersten Generation, sind für kleine Meerschweinchen pathogen, außer natürlich, wenn man sehr große Mengen injiziert. Im allgemeinen sind frisch isolierte Stämme pathogen, während eine Zeitlang auf künstlichen Nährböden gezüchtete es nicht sind. Bisweilen behält ein Kokkenstamm seine Pathogenität viele Monate bei, aber in der Regel geht die Kraft nach den ersten Umimpfungen innerhalb weniger Wochen verloren. Ich habe mit Kulturen gearbeitet, die in wenigen Tagen nachließen, aber ein Stamm (Smith) behielt seine Kraft viele Monate ungeschwächt bei, um sie schließlich doch auch zu verlieren. Dieser Stamm war durch viele Mäuse, Meerschweinchen und Affen in der Periode seiner Wirksamkeit hindurchgegangen; aber nachdem er einmal seine Wirksamkeit verloren hatte, ließ sich diese auch durch Passagen durch Mäuse und Meerschweinchen nicht wiederherstellen. Er gibt immer noch ein wirksames Extrakt ab und kann als Unterstützung für lebende Kulturen benutzt werden. Auch dadurch, daß man ihn 10 Generationen hintereinander über einen aus Bouillon und dem Serum einer gegen den Diplococcus immunisierten Ziege bereiteten Nährboden schickt, ließ sich seine Kraft nicht vermehren.

Beim Meerschweinchen ist die Reaktion auf die Impfung verschieden, je nach dem Grade pathogener Kraft, die der Kokkenstamm besitzt. Ich hielt es bei meinen Versuchen für notwendig, eine Normalkraft der einzuimpfenden Kultur festzustellen. Es war nicht leicht möglich, ein gleichmäßiges Wachstum auf der Oberfläche von Agarserum zu bekommen. Daher bereitete ich mir von der großen flachen Oberfläche eine Kochsalzsuspension, die einen gleichmäßigen Grad von Trübung zeigte. Man mußte die Suspensionen von frischen Kulturen (womöglich nicht über 24 Stunden alt) nehmen und sofort nach der Zubereitung benutzen. Es ist unsicher, Suspensionen bis zum nächsten Tage stehen zu lassen, ohne ihre Stärke von neuem zu bestimmen. Eine teilweise Verschlechterung findet sehr schnell statt.

Die Normaldosis der Suspension schwankte in der Regel zwischen 0,1 und 0,5 ccm für kleine Meerschweinchen bei intraperitonealer Injektion; der Tod erfolgte dabei binnen 24 Stunden. Kräftige Kulturen haben bei einer solchen Stärke der Suspension bei den kleinsten Dosen den Tod binnen 8—10 Stunden zur Folge. Eine Kultur, die in einer Dosis von 0,5 ccm 24 Stunden braucht, um das Tier zu töten, hat nur eine schwache Virulenz. Im Laufe langer Versuchsreihen kommen Unregelmäßigkeiten vor. Einmal starb von einer Serie ein Meerschweinchen nach 4 Stunden, während ein anderes 36 Stunden lebte. Aber diese Unregelmäßigkeiten lassen sich durch Parallelimpfungen ausschalten. Bei überlebenden Tieren kommt es vor, daß der Tod noch nach einigen Tagen erfolgt und vorbereitet wird durch ein Stadium großer Abmagerung.

Die hauptsächlichsten Läsionen finden sich in der Peritonealhöhle. Wenn man die beiden extremen Fälle (Tod binnen 4 Stunden und nach einigen Tagen) ausschließt, sind die Erscheinungen und Bedingungen ganz gleichmäßig. In der Regel erliegen Meerschweinchen derselben Versuchsreihe ungefähr zu derselben Zeit 1 oder 2 Stunden voneinander. Wenn die Kokken den Tod binnen 12—14 Stunden herbeiführen, sind die Resultate ziemlich regelmäßig; größere Unregelmäßigkeiten kommen vor, wenn der Tod sich bis 24 Stunden nach der Impfung verzögert.

Flüssige Exsudate in der Bauchhöhle sind die Regel; und mehr oder weniger Fibrin und Eiter bedeckt die Vorderseite der Leber und findet sich in dem aufgerollten Netz vor. Makroskopisch ist der Unterschied zwischen Tieren, die nach 12 und solchen, die nach 24 Stunden erliegen, nicht groß. Aber die mikroskopische Untersuchung zeigt, daß die Unterschiede beträchtlich sind. Die virulenten Kokken sind es, bei denen der Tod schneller erfolgt; in diesem Falle zeigt das Exsudat viele, oft massenhafte Kokken. Das Bild beweist, daß die injizierten Kokken sich nicht nur erhalten, sondern wohl auch vermehrt haben. Bei weniger virulenten Kokken enthält das Exsudat weniger Mikrokokken und kann sogar ganz frei davon sein. Selbst wenn der Tod in der erwähnten kurzen Zeit eintritt, wird die Zahl der Kokken ziemlich gering sein. Mit anderen Worten: Virulenz und Widerstandsfähigkeit gegenüber Zerstörung gehen Hand in Hand. Ein verhältnismäßig nicht virulenter Kokkenstamm kann noch giftig sein, aber hat nur eine geringe oder gar keine Widerstandskraft gegenüber dem Zerfall, und ist nicht fähig, sich im Peritoneum zu vermehren. So kann man zwei extreme Bilder bekommen, zwischen denen Uebergänge vorhanden sind. Wenn der Kokkenstamm stark virulent ist, findet voraussichtlich eine Vermehrung im Körper statt, jedenfalls aber nur eine ganz geringe Auflösung der injizierten Mikroorganismen, und angelegte Kulturen sind positiv. Der Tod tritt gewöhnlich früh ein; es kommt selten vor, daß ein besonders widerstandsfähiges Meerschweinchen die gewöhnliche Zeit überlebt, und selbst dann sind Kokken in einer gewissen Anzahl zu finden. Wenn der Stamm wenig virulent ist, neigt er von Anfang an zum Zerfall, und selbst wenn das Tier früh erliegt, kann die Bauchhöhle frei von Mikroorganismen sein, und wenn eine kleine Anzahl noch vorhanden ist, so entwickeln sie sich oft nicht in Kulturen. Die stärker virulenten Kokken dringen in das Blut und die Gewebe ein und lassen sich aus dem Blute, den inneren Organen, dem Knochenmark u. s. w. züchten; die schwächer virulenten Kokken finden sich im Innern des Körpers nicht.

Ich habe einige Beobachtungen angestellt über die Stärke der toxischen Flüssigkeiten, die verschiedene Kokkenstämme durch Autolyse ergaben, und sie zeigen, daß diese Flüssigkeiten nicht ganz die gleiche Stärke haben. Die stärker virulenten Kokken ergeben zu Zeiten ein stärker toxisches Autolysat als die weniger virulenten Mikroorganismen. In Anbetracht der Tatsache, daß das Autolysat die Kokken unterstützt, kann es wohl sein, daß gerade dieser kräftige toxische Extrakt die ersteren Kokkenstämme lebendig bleiben und sich im Körper vermehren läßt; denn ein Teil von ihnen, der der Auflösung verfiele, könnte das nötige Autolysat liefern, um die Widerstandsfähigkeit des Tieres herabzusetzen. Bei den schwach virulenten Kokken wird der Tod entsprechend diesen Beobachtungen lediglich den freigewordenen Endotoxinen zuzu-

schreiben sein, bei denen ja größere Mengen und längere Zeit erforderlich sind.

Ich habe auch einige Versuche angestellt über die Fähigkeit des Peritonealexsudates von Meerschweinchen, Diplokokken aufzulösen. Das flüssige Exsudat wurde abgeschieden und von Zellen durch die Zentrifuge befreit. Es besitzt eine große verdauende Kraft gegenüber den Kokken. Mit frischen Kulturen gemischt, werden viele Kokken getötet und zerfallen; und die Kokken in einer mit Toluol versetzten Mischung verfallen viel rascher der Auflösung. Enorme Mengen Kokken können von dem Exsudat verdaut werden, wobei dieses an Giftigkeit zunimmt. Die Auflösung der Kokken geht in dem mit Toluol versetzten Exsudat viel schneller vor sich als in Kochsalzlösung. 30 Minuten bis 1 Stunde auf 58° C erhitztes Exsudat hat dieselbe verdauende Wirkung wie vorher auf frische Kulturen und auf bis 65° C erhitzte Kokken. Daher ist anzunehmen, daß diese Wirkung enzymatisch ist. Das Blutserum des Meerschweinchens hat die Fähigkeit, die Kokken zu verdauen, nicht.

Ein Maßstab für die Reaktion des Meerschweinchens ist in der Auswanderung von Leukocyten gegeben. Bei den Fällen mit raschem Tod und Intaktbleiben der Kokken ist die Auswanderung schwach oder fehlt ganz, während bei den Fällen mit langsamem Tod und Verschwinden der Kokken die Auswanderung beträchtlich ist. Viele Uebergänge finden sich zwischen diesen Extremen. Wenn bei fast vollständiger Erhaltung der Kokken Auswanderung bemerkbar ist, so hat eine Phagocytose stattgefunden. Wenn die Kokken in erheblicher Menge, aber nicht vollständig verschwunden sind, ist die Phagocytose reichlicher. Phagocytose ist eine Funktion der Auswanderung, aber kein Maßstab dafür. Das Verschwinden der Kokken aus der Bauchhöhle hängt nicht lediglich von der Phagocytose ab. Ich glaube, daß die Kokken verschwinden können ohne Vermittelung von Phagocytose, wahrscheinlich durch Selbstverdauung und durch die verdauende Wirkung des entzündlichen Exsudates.

Die Leukocyten sind häufig zahlreich im Netz und in jedem fibrinösen Exsudat, während sie in der Peritonealflüssigkeit spärlich sind; eine klare peritoneale Flüssigkeit enthält verhältnismäßig wenig, eine trübe viele Leukocyten. Da sich trübe Flüssigkeiten bei länger überlebenden Tieren finden, besteht eine Beziehung zwischen dem Grad der Virulenz und der Auswanderung. Aber da die Auswanderung reichlicher ist bei denjenigen Tieren, bei denen die Kokken schnell zerfallen, scheint sie nicht lediglich durch das Bedürfnis der Phagocytose bedingt zu sein. Die toxischen Kokkenextrakte erzeugen flüssige Exsudationen in der Bauchhöhle, aber, soweit ich gesehen habe, keine trüben. Vielleicht ziehen Bakterienbruchstücke, die bei Injektion von Kulturen vorhanden sind, aber in zentrifugierten und filtrierten Autolysaten fehlen, viele Leukocyten an. Die Leukocyten des Netzes sind groß und blaß, während die der Peritonealflüssigkeit klein und dicht sind. Ihre Kerne sind oft unregelmäßig geformt oder fragmentiert. Kokken finden sich häufig im Protoplasma, seltener im Kern, und sie zeigen alle Uebergänge von wohlerhaltenen Organismen zu Bruchstücken und angeschwollenen, metachromatischen Körpern.

Die Hauptläsionen an den Meerschweinchenorganen sind: 1) Lebhafte Kongestion oder Hämorrhagieen der Nebennieren; 2) Hämorrhagieen in das Bauchfell und die mittlere Zwerchfellsehne; 3) gelatinöses Oedem des Pankreas und peripankreatischen Gewebes.

Zu Beginn meiner Untersuchungen hatte ich die Absicht, Affen zur Darstellung der Läsionen und Symptome der menschlichen Cerebrospinalmeningitis zu verwenden. Einige meiner ersten Versuche wurden an diesen Tieren vorgenommen. Die Kulturen wurden in den Spinalkanal vermittelst Lumbalpunktion eingeführt. Die Injektion wurde gewöhnlich in der Höhe des dritten Lendenzwischenwirbelraumes gemacht. Dieser Intervertebralraum liegt bei vielen Affen nicht unter der Grenze des Rückenmarks, aber ich habe nie gesehen, daß auf die Injektion Lähmung gefolgt wäre. Bei den ersten Versuchen hatte ich den Erfolg, daß die Tiere eine akute Leptomeningitis bekamen, an der sie starben. Die Symptome an verschiedenen Tieren waren Depression, Koma, Krämpfe, Nystagmus, Opisthotonus u. s. w. Die Erfahrungen, die ich an Meerschweinchen machte, waren mir für meine Arbeiten mit den Affen sehr wertvoll. Die variable Virulenz der Kokken störte zuerst das erfolgreiche Arbeiten mit den Affen, ebenso wie mit den Meerschweinchen. Nachdem ich aber geeignete Stämme nahm, erzielte ich mit Erfolg schwere und tödliche Leptomeningitis bei einer großen Anzahl Affen. Vermittelst von Lumbalpunktionen im Verlaufe der Krankheit untersuchte ich die Art und Weise, wie das Tier reagiert, und das Schicksal der Mikroorganismen. Ich gebe hier das Protokoll meines ersten Versuches an Affen wieder, da dies einen typischen Fall darstellt.

Macacus nemestrinus. 12. Mai 1905, 10½ Uhr vorm. Ein gut gebauter Affe wurde mit Aether narkotisiert[1]), worauf eine Nadel in den Rückenmarkskanal eingeführt wurde: Eine klare, wässerige Flüssigkeit floß aus der Nadel ab. Eine 18-stündige Kultur von Diplococcus intracellularis, eine der ersten Generationen von Loeffler-Serum, wird eingespritzt. Die Kultur bestand aus vielen einzelnen Kolonieen und war in 2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Der Affe erholte sich schnell von der Operation. 6 Stunden später machte er einen kranken Eindruck. 6 Uhr nachm. saß er nicht mehr auf seiner Stange. 9 Uhr abends noch auf dem Boden des Käfigs; Kopf tief, sichtlich sehr krank; auf Reize bewegt er sich langsam. Tod während der Nacht. Lebte wahrscheinlich 18—20 Stunden nach der Einspritzung.

Sektion 13. Mai 9 Uhr vorm. Innere Organe, außer dem Nervensystem, zeigen keine augenfälligen Veränderungen. Gehirn und Rückenmark. Keine übermäßige Flüssigkeitsmenge in den Hirnhäuten. Konvexität des Gehirns stark blutreich, punktförmige Blutungen in der Spinnwebenhaut und den obersten Rindenschichten. Kein ausgesprochenes Exsudat auf der Höhe der Windungen, während die Pia der Furchen weiß und leicht verdickt erscheint (wahrscheinlich eine alte Veränderung). Ein Erweichungsherd oder ein Absceß, in der Größe einer großen Erbse, ist rechts vom oberen Sinus longitudinalis in den vor der Bewegungssphäre gelegenen Windungen und dicht unter der Hirnhaut zu finden. Die Gehirnbasis ist bedeckt mit einem opaken Exsudat, weiß an Farbe, das sich bis über die Medulla und vorn bis zur Sehnervenkreuzung erstreckt. Der Lenden- und Rückenteil des Rückenmarks sind besonders auf der Rückseite mit einem opaken weißen Exsudat bedeckt. Der Diplococcus ließ sich in Kulturen aus dem Rückenmarks- und dem Gehirnbasisexsudat und aus dem Herzblut auffinden. Abstrichpräparate von den Exsudaten zeigten eine große

1) Bei den späteren Versuchen wurde Aether nicht mehr angewendet, da die Operation wenig schmerzhaft ist.

Anzahl polymorphkerniger Leukocyten, von denen viele Diplokokken enthielten; und auch Diplokokken frei im Exsudat liegend. Der Erweichungsherd enthielt Massen von Leukocyten und enorme Mengen Diplokokken. Die mikroskopische Untersuchung von Schnitten des entzündeten Gehirns und Rückenmarks zeigte ein akutes eiterig-fibrinöses Exsudat in der Spinnwebenhaut und eine oberflächliche akute Encephalitis.

Durch diesen und spätere Versuche ließ sich zeigen, daß die niederen Affen ohne Schwierigkeit mit dem Diplococcus intracellularis infiziert werden können, und daß sich bei ihnen die pathologischen Verhältnisse erzeugen lassen, die bei der menschlichen epidemischen Cerebrospinalmeningitis herrschen. Die Versuche zeigen, daß in den unteren Teil des Rückenmarkskanals eingebrachte Kokken sich in wenigen Stunden durch die Hirnhäute verteilen und eine Entzündung hervorrufen, deren Exsudat sich hauptsächlich in den Rückenmarkshäuten und den Häuten der Hirnbasis ansammelt. Die Regelmäßigkeit, mit der das Hauptexsudat an der Gehirnbasis gefunden wird, und die Seltenheit, mit der es in erheblichen Mengen auf der Konvexität erscheint, ließen mir Zweifel aufsteigen wegen der Richtigkeit der Ansicht, die diese Lokalisation beim Menschen darauf zurückführt, daß der Infektionsstoff unmittelbar durch die Nasenschleimhaut in die Gehirnhäute eindringt. Diese Vorliebe, sich an der Basis der Affengehirne zu lokalisieren, ist besonders mit Rücksicht auf die Tatsache interessant, daß sie gewöhnlich erst kurze Zeit vor dem Tode sich auf die Seite niederlegen. Vergleicht man die experimentell erzeugten Veränderungen am Affen mit den sich beim Menschen natürlich entwickelnden, so ist die unter beiden Bedingungen auftretende Encephalitis und Absceßbildung zu beachten, die durch ein Eindringen des Diplococcus in das Nervengewebe bedingt werden.

Im Gegensatz zu der Leichtigkeit, mit der eine akute Entzündung erzeugt werden kann, steht die Schwierigkeit, die die Erzeugung einer subakuten Form der Meningitis beim Affen bereitet. Intraspinale Injektionen haben entweder eine akut tödliche Meningitis oder eine akute Erkrankung, von der sich das Tier rasch erholt, zur Folge. Die die Impfung überstehenden Tiere sind gewöhnlich nach 3—4 Tagen von der Krankheit wieder völlig hergestellt. Selten schleppt sich ein Tier einmal eben so lange mit der Krankheit hin, um schließlich doch zu sterben. Affen, die den 2. Tag nach der Impfung überleben, erholen sich eher, als daß sie sterben. Wenn man bei geimpften Tieren vermittelst Lumbalpunktion die Veränderungen im Rückenmarkskanal verfolgt, kann man den Fortschritt der Infektion feststellen und oft den Ausgang vorhersagen. Es besteht eine große Aehnlichkeit zwischen den im Rückenmarkskanal von Affen und den in der Bauchhöhle von Meerschweinchen sich abspielenden Veränderungen. Der auffallendste Unterschied ist die hochgradigere Phagocytose, die in dem Rückenmarkskanal vor sich geht, wenn auch die Kokken auf diese Weise nicht vollständig entfernt werden, und der gleiche Unterschied in Bezug auf die Widerstandsfähigkeit gegenüber der Zerstörung, die von der Virulenz abhängt, findet sich bei beiden Tieren.

Zeitiges Verschwinden der Kokken aus dem Rückenmarkskanal ist ein günstiges Zeichen; ebenso ist frühzeitige Leukocytenauswanderung ein gutes Zeichen; frühzeitige Auswanderung, lebhafte Phagocytose und

Auflösung der Kokken, innerhalb und außerhalb von Leukocyten, sind äußerst günstige Zeichen. Und genau, wie beim Meerschweinchen der Tod eintreten kann, obgleich die Kokken vollständig vom Peritoneum verschwinden, so kann auch der Affe erliegen, obwohl Kokken weder in Abstrichpräparaten gefunden noch in Kulturen aus den entzündeten Hirnhäuten nachgewiesen werden können.

Indem ich auf diese Weise den Erfolg der Impfung verfolgte, konnte ich eine kleine Anzahl Affen mehrere Wochen in einem Zustand von Subinfektion mit dem Diplococcus erhalten. Der Zeitpunkt für jede folgende Impfung wurde durch die Punktion und durch den körperlichen Befund am Tiere bestimmt. Es entwickelte sich allmählich ein Zustand von Widerstandsfähigkeit, die die Anwendung immer größerer Mengen von Kulturen nötig machte, um einen sichtbaren Erfolg zu erzielen; schließlich erlag das heruntergekommene Tier gewöhnlich einer Impfung mit einer zu großen Kokkendosis. Bei diesen Tieren war das Exsudat dicker und fester und bedeckte die Basis und die Konvexität des Gehirns. Die Ventrikel waren stark erweitert und enthielten trübes Exsudat.

Obwohl die bei diesen Affen erzielten pathologischen Veränderungen den bei der natürlichen Erkrankung der Menschen beobachteten vergleichbar sind, so besteht doch keine wirkliche Beziehung zwischen ihrer beiderseitigen Empfänglichkeit dem Diplococcus intracellularis gegenüber. Die Menge von wirksamen Kulturen, die man braucht, um deutliche Symptome zu erzeugen oder die Affen an Meningitis sterben zu lassen, ist unendlich groß im Vergleich mit dem, was wahrscheinlich bei der menschlichen Infektion vorkommt. Ferner ist die Vermehrung der Kokken beim Affen selbst bei günstigsten Bedingungen nur gering; und ich möchte glauben, daß bei vielen Versuchen eine Vermehrung überhaupt nicht statthatte. Bei Absceßbildung glaube ich, daß eine Vermehrung der Kokken vorkommt. Es sind Versuche im Gange, die feststellen sollen, inwieweit sich die Zeichen und die Veränderungen der Meningitis vermittelst löslicher Gifte, die man von den Kokken erhalten kann, hervorrufen lassen.

Die Hirnhautentzündung erstreckt sich bei Affen bis auf die den Riechlappen bedeckenden Häute und, wie ich durch Ausstrichpräparate festgestellt habe, bis in die Siebbeinzellen und wahrscheinlich bis in die Nase. In einzelnen Fällen wurde die Nasenschleimhaut entzündet und mit kleinen Hämorrhagieen besetzt befunden. Ausstrichpräparate zeigten mir oft in großer Menge polymorphkernige Leukocyten, die Diplokokken enthielten, welche Form, Gestalt, färberische Eigenschaften und Degenerationsformen der bei denselben Fällen in den Hirn- und Rückenmarkshäuten angetroffenen Kokken hatten. Zwei Versuche, die Kokken aus der Nase zu züchten, schlugen fehl, vielleicht wegen der Anwesenheit fremder Bakterien. In Anbetracht der Wichtigkeit, die die Feststellung des Ueberganges der Diplokokken von den Meningen auf die Nase für die Epidemiologie der Meningitis haben würde, soll der Versuch wiederholt werden, die Kokken aus den Nasengängen zu züchten.

Trotzdem theoretische Erwägungen wenig dazu ermutigten, wurde auch der Einfluß von Antiseren auf die künstliche Diplokokkeninfektion untersucht. Ich nahm an, daß sich der hauptsächlichste pathologische Prozeß dort abspielen werde, wo die Kokken injiziert wurden; und da die Seren unmittelbar mit dem Infektionsherd in Berührung gebracht

werden konnten, konnte eventuell eine günstige Beeinflussung erzielt werden[1]). Ich ließ mich auch von der Betrachtung leiten, daß beim Menschen die hauptsächlichsten organischen Veränderungen der epidemischen Genickstarre in den Hirnhäuten zu finden sind, und vielleicht erst später im Gehirn und Rückenmark auftreten; und in vielen Fällen entwickeln sich die Bakterien nicht sehr stark. Noch eine andere Betrachtung wurde in Rechnung gezogen, nämlich, daß man vielleicht bei an Cerebrospinalmeningitis leidenden Menschen an ähnliche Injektionen denken könnte, wenn man bei Affen durch Injektion von Antiseren in den Rückenmarkskanal die künstliche Erkrankung aufhalten könnte und es sich herausstellte, daß die Injektionen keine üblen Wirkungen hinterließen.

Die Versuche mit Antiseren, deren Ergebnisse ich kurz anführen will, waren befriedigender als ich von ihnen erwartet hatte. Indes stellen sie keine endgültigen Resultate dar, sondern sind nur der Anfang von Versuchen auf diesem ebenso wichtigen wie schwierigen Gebiete.

Die Antiseren wurden hergestellt bei Kaninchen, Ziegen und großen Affen. Den Kaninchen wurde nur je ein Stamm injiziert, den Ziegen viele Kokkenstämme. Den Affen wurden injiziert teils Kokken, teils Kokken und (aggressinhaltiges) Exsudat aus der Bauchhöhle von Meerschweinchen. Die Kaninchen eigneten sich wenig dazu, da sie gegenüber den Injektionen eine Hypersensibilität zeigten, so daß viele starben. Ferner war die geringe Menge Serum, die sie lieferten, ein Nachteil. Die Ziege stellte sich als sehr geeignet zur Immunisierung heraus, da sie die Injektionen gut vertrug und in verhältnismäßig kurzer Zeit ein agglutinierendes Serum gab. Die ersten Versuche ergaben, daß das Kaninchenserum sehr giftig für Meerschweinchen war, wenn man es in Dosen von über 0,5 ccm in die Bauchhöhle einspritzte. Die ersten Prüfungen der Schutzkraft des Ziegenserums wurden angestellt mit einem Serum, das durch eine Blutentnahme am 18. Nov. 1905 gewonnen worden war. Die Meerschweinchen wogen 250 g. Es wurde Serum eingespritzt 1) 24 Stunden vor der Kokkeninjektion und 2) zugleich mit der Kokkeninjektion. Die Meerschweinchen mit Serum blieben am Leben, die Kontrolltiere starben. Die angewendete Menge Ziegenserum betrug 1 ccm; es wurde intraperitoneal oder subkutan injiziert. Die Kokken wurden in die Bauchhöhle eingespritzt. Die nächste Prüfung des Serums fand 3 Tage später statt. Das Serum wurde wieder subkutan und intraperitoneal gegeben, und außer den gewöhnlichen Kontrolltieren wurde einer Reihe Bouillon injiziert. Die Kokken wurden 30 Stunden nach dem Serum und der Bouillon eingespritzt. Die Kontrolltiere, einschließlich derer, die Bouillon bekommen hatten, starben während der Nacht. Das Meerschweinchen, das 0,1 ccm Serum in das Unterhautzellgewebe am Rücken bekommen hatte, starb ungefähr zu derselben Zeit. Tiere, die 0,1 ccm Serum intraperitoneal und 1,0 ccm subkutan erhalten hatten, blieben am Leben. Der nächste zu erwähnende Versuch wurde am 26. Febr. 1906 mit dem Serum eines Kaninchens angestellt, dem Diplokokken und Meerschweinchenaggressine eingespritzt worden waren. Die Kontrolltiere starben nach 14—17 Stunden. Das Antiserum

1) Man weiß jetzt, daß die Diplokokken bei epidemischer Meningitis im Blute auftreten. Es ist interessant, daß die Diplokokken bei geimpften Affen vom Rückenmarkskanal aus ins Blut eindringen.

wurde gleichzeitig mit den Kokken gegeben, und die Tiere, die 0,1 ccm intraperitoneal und 0,5 ccm subkutan erhielten, blieben leben, während solche mit 0,5 ccm intraperitoneal und 0,1 ccm subkutan zwar länger lebten als die Kontrolltiere, aber doch endlich starben. So sieht man, daß man durch eine der Kokkeninjektion vorausgehende Einspritzung einer prophylaktischen Serumdosis oder durch gleichzeitige Injektion von Serum und Kokken das Leben der Meerschweinchen erhalten kann. Die richtige Dosierung des Kaninchenserums ist wichtig. Zu wenig Serum genügt zur Schutzwirkung nicht, und zu viel Serum, wenigstens Kaninchenserum, vereitelt die Wirkung durch seine Giftigkeit. Es wurden auch therapeutische Prüfungen vorgenommen mit Kaninchenantiserum mit dem Erfolge, daß einige Meerschweinchen 1 Stunde nach der Infektion mit einer Dosis von 0,5 ccm am Leben erhalten werden konnten. Wenn man diese Dosis überschritt, so beschleunigte das Serum durch Vergiftung die tödliche Wirkung der Kokken. Nach einigen weiteren monatlichen Impfungen der Ziege wurde ihr Serum wieder geprüft. Die Blutentnahme vom 14. März 1906 wurde bei den folgenden Versuchen verwendet. Bei diesem Ziegenserum wurde eine sichere Schutzwirkung gefunden bei Dosen von 0,1 ccm und eine verschiedene Schutzwirkung bei 0.02—0,01 ccm. Es war auch noch therapeutisch wirksam bei intraperitonealer Applikation in einer Dosis von 0,1 ccm 2 und 4 Stunden nach der Injektion. Infizierte Meerschweinchen konnten bei subkutaner Injektion auch größerer Mengen Serums nach Verlauf einiger Stunden nicht am Leben erhalten werden. Der Unterschied, den die Zeitdifferenz macht, ließ sich durch den Gewichtsverlust (25 Proz.) zeigen, den das 4 Stunden nach der Infektion behandelte Meerschweinchen erlitt.

Die erste Prüfung des Ziegenserums am Affen fand am 2. Dez. 1905 statt. Zwei Spinnenaffen (Südamerika) wurden mittags 12 Uhr mit Diplokokkenkulturen geimpft. Am selben Tage 3 Uhr nachm. wurde dem einen 2 ccm Serum in den Rückenmarkskanal gegeben. Beide Tiere wurden sehr krank; der Kontrollaffe erholte sich schließlich wieder, und der behandelte starb während der Nacht. Das mit Serum behandelte Tier wurde nach der Seruminjektion schnell kränker, als Zeichen der ungünstigen Wirkung der Injektion. Die bei der Sektion gefundenen Veränderungen waren sehr schwer und zwar derartig, daß man daraus entnehmen muß, daß das Ziegenserum nicht ungestraft in den entzündeten Rückenmarkskanal eines Affen injiziert werden kann.

Zwei große Exemplare von *Macacus nemestrinus* wurden, wie erwähnt, immunisiert, um ein homologes Serum zu liefern, das vor allem an Affen durch intraspinale Injektion geprüft werden sollte. Injektionen von Diplokokken und Exsudat (Aggressine) vom Meerschweinchen wurden 9 Monate lang vorgenommen. Dann wurde den Tieren am 15. Juni 1906 Blut entnommen und das Serum geprüft. Eine Reihe von 5 Affen (*Macacus rhesus*) wurde mit dem Serum behandelt, wobei jedesmal ein Kontrolltier geimpft wurde. Diese Versuche sollen kurz angeführt werden. Die Kontrollaffen erlagen bei allen Versuchen. Ehe ich die Protokolle dieser Versuche mitteile, will ich noch erwähnen, daß mit einer Ausnahme derselbe Kokkenstamm verwendet wurde. Es fand sich, daß von der Normalsuspension 0,5 ccm den Tod nach etwa 50 Stunden zur Folge hatte und 1,0 ccm nach 22 Stunden. Zur Serumprüfung wurde 1 ccm verwendet.

Versuch vom 3. Juli 1906. Ein mittelgroßer *Macacus rhesus* erhält um 11 Uhr vorm. 1 ccm Emulsion des Diplococcus No. 596 zusammen mit 1 ccm Affenantiserum No. 1. Etwas Flüssigkeit tropft aus der Nadel vor der Injektion. Am 4. Juli 9 Uhr vorm. erscheint der Affe unverändert, lebhaft, auf der Stange. Eine Lumbalpunktion ergibt einige Tropfen einer leicht getrübten Flüssigkeit, die auf dem Deckgläschen freie Diplokokken und Leukocyten in mäßiger Zahl sehen läßt, von denen einige schwach gefärbte Diplokokken enthalten. Kultur aus der Flüssigkeit negativ. Am 5. Juli 11 Uhr vorm. ist der Affe anscheinend gesund. Lumbalpunktion ergibt eine geringe Menge klarer Flüssigkeit, die weder Leukocyten noch Kokken enthält. Kulturen negativ. Am 10. Juli ist der Affe dauernd gesund.

Versuch vom 5. Juli 1906. Ein mittelgroßer *Macacus rhesus* erhält 1 ccm Suspension der Kultur No. 596 um 11 $^{3}/_{4}$ Uhr nachm.[1]). Etwas Flüssigkeit tropft aus der Nadel vor der Injektion. Um 2 Uhr nachm. war der Affe krank. Die Lumbalpunktion ergab eine geringe Menge ziemlich dicker, opaker Flüssigkeit. Sofort wurde 1 ccm Immunserum eingespritzt. Unmittelbar nach Beendigung der Einspritzung entwickelten sich beunruhigende Drucksymptome. Das Tier war 2 Stunden lang hinfällig, worauf es wieder langsam besser wurde. 6 Uhr nachm. reagiert es auf Reize. 9 Uhr vorm. am nächsten Tage war der Affe wieder wohlauf und machte einen gesunden Eindruck. In der Folge blieb es ebenso. Deckgläschen mit dem Exsudat der Lumbalpunktion zeigten viele polymorphkernige Leukocyten und eine geringe Anzahl Lymphocyten, viel extracelluläre und wenige intracelluläre Diplokokken.

Versuch vom 13. Juli 1906. Ein mäßig großer *Macacus rhesus* erhält um 11 $^{1}/_{4}$ Uhr vorm. 1 ccm Emulsion des Coccus No. 596. Obgleich Flüssigkeit nicht zu erhalten war, war der Kanal doch sicher getroffen. 4 Uhr nachm. ist das Tier krank. 5 Uhr nachm. niedergedrückt, aber doch noch aufrecht sitzend. Die Lumbalpunktion ergibt eine kleine Menge trüber Flüssigkeit, aber während der Operation kollabiert das Tier; 1 ccm Serum wird langsam eingespritzt. Der Affe wurde bis 10 Uhr nachm. beobachtet; die Krankheit schreitet nicht vorwärts. Am 14. Juli vorm. macht der Affe einen gesunden Eindruck. Weitere Erscheinungen traten nicht auf. Die bei der Lumbalpunktion gewonnene Flüssigkeit zeigte viele Leukocyten mit hier und da einem intracellulären Coccus und extracellulären Kokken.

Versuch vom 27. Juli 1906. Um 8 $^{3}/_{4}$ Uhr vorm. erhält ein mittelgroßer *Macacus rhesus* eine ganze 18-stündige Kultur von einem schrägen Agarröhrchen No. 610, die in Kochsalzlösung suspendiert ist, in den Rückenmarkskanal. Es ließ sich vor der Injektion Flüssigkeit gewinnen. 11 Uhr vorm. wurden 5 ccm Antiserum vom Affen No. 2 in der Lendengegend unter die Haut gespritzt. Vor der Einspritzung war das Tier krank; es lag unten im Käfig halb auf der Seite. Einen unmittelbaren Erfolg hatte die Einspritzung nicht, aber die Symptome nahmen auch nicht zu. Am nächsten Tage machte das Tier einen gesunden Eindruck. Die Lumbalpunktion blieb nach der Injektion ohne Erfolg bis zum nächstem Tage, an dem sich eine klare Flüssigkeit ohne Kokken und Leukocyten gewinnen ließ. Das Kontrolltier für diesen Affen war ein viel kleineres und schwächeres Exemplar derselben Art, das nach

---

1) Soll wohl 11 $^{3}/_{4}$ Uhr vorm. heißen. Anmerkung des Uebersetzers.

8 Stunden erlag. Ich betrachte diesen Versuch nicht als über jeden Zweifel erhaben; da ich aber damals nicht in der Lage war, noch mehr Affen zu bekommen, konnte ich den Versuch nicht noch einmal wiederholen.

Bis so weit war die Versuchsreihe erfolgreich. Ich muß jedoch einen unter Umständen beobachteten Mißerfolg erwähnen, der in Anbetracht der vorhergehenden erfolgreichen Prüfungen gänzlich unerwartet kam.

Versuch vom 20. Juli 1906. Ein mittelgroßer *Macacus rhesus* erhält um 12 Uhr vorm. 1 ccm Emulsion des Coccus No. 596. 3 Uhr nachm. wird 1 ccm Antiserum intraspinal injiziert. Dieser Affe war krank, als er das Serum erhielt, und die Symptome schritten recht schnell vorwärts. Um 11 Uhr abends war das Tier ganz hinfällig und saß mit niederhängendem Kopf im Käfig. Es starb am 21. Juli ungefähr um 7 Uhr vorm. Die Sektion zeigte eine ganz ungewöhnliche Menge Exsudat in den Rückenmarkshäuten. Deckglaspräparate zeigten ein eiteriges Exsudat mit großen Mengen Kokken, die sämtlich innerhalb polymorphkerniger Leukocyten lagen. Das Exsudat in den Hirn- und Rückenmarkshäuten zeigte dasselbe Bild vollständiger Phagocytose, obwohl die Zahl der Leukocyten und Kokken kleiner war. Die bei der Lumbalpunktion vor der Seruminjektion abgezapfte Flüssigkeit enthielt große Mengen Diplokokken und sehr wenig Leukocyten, von denen hier und da einer Diplokokken enthielt. Kulturen aus den Häuten des Rückenmarks, der Medulla und der Hirnrinde und aus den Seitenventrikeln waren positiv, solche aus dem Herzen und Knochenmark des Femur negativ.

Bei der Beschreibung der charakteristischen Veränderungen am Meerschweinchen wurde das Auftreten von Hämorrhagieen am Mesenterium, Diaphragma und den Nebennieren erwähnt. Es fand sich, daß die Antiseren das Auftreten dieser Veränderungen verhinderten, auch wenn sie die geimpften Meerschweinchen nicht am Leben erhalten konnten. Das Immunserum vom Affen war beim Meerschweinchen wirksam, obwohl dieses Serum anscheinend eine größere natürliche Giftigkeit für das Meerschweinchen besitzt als das Ziegenserum.

Die im Vorhergehenden kurz beschriebenen Versuche haben vielleicht insofern einen gewissen Wert, als sie uns die Art und Weise besser verstehen lassen, in der der Diplococcus intracellularis seine besonderen Wirkungen am Menschen entfaltet. Sie können auch zeigen, daß der Diplococcus ein Mikroorganismus ist, der hochinteressante und ganz eigenartige biologische Eigenschaften besitzt. Diejenigen Versuche, die sich mit den prophylaktischen und therapeutischen Eigenschaften der mit dem Diplococcus bereiteten Antiseren beschäftigen, sind genügend ermutigend, um in weiterem Maße und eingehender untersucht zu werden. Inwieweit man die bei Meerschweinchen und Affen erzielten Resultate für die Verhütung und Behandlung der Cerebrospinalmeningitis beim Menschen wird in Anwendung bringen können, läßt sich nicht vorhersagen. Sollten weitere Versuche zeigen, daß subkutane oder intravenöse Einspritzungen von Antiseren die künstliche Erkrankung bei Affen günstig beeinflussen können, so würde die Sache nicht hoffnungslos sein. Ich glaube nicht, daß man eine Injektion artfremder Seren in den Rückenmarkskanal des Menschen wagen darf, bis nicht ihre physiologische Wirkung eingehender an Affen studiert

worden ist. Wenn es erreichbar wäre, Affen zur Herstellung der für den Menschen bestimmten Antiseren zu verwenden, so würde die Gefahr einer Serumintoxikation verringert werden, während die Wirkungen des Immunitätsprinzips gewahrt blieben. Ich beabsichtige die begonnenen Versuche in dieser Richtung fortzusetzen.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Die Anaërobiose des Fränkelschen Diplococcus in Beziehung zu einer seiner pathogenen Eigenschaften.

[Aus dem Institut für pathologische Anatomie der Kgl. Universität zu Bologna (Direktor: Prof. G. Martinotti).]

Von Dr. **Giuseppe Bolognesi**, Assistenten.

Mit 1 Tafel.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz - Berlin.

Einige Tiere, die mir zu verschiedenen Laboratoriumsversuchen gedient hatten und unabhängig von den an ihnen vollzogenen operativen Eingriffen zu Grunde gegangen waren, zeigten bei der Autopsie anatomische Veränderungen, die stets das gleiche Aussehen hatten und daher meine Aufmerksamkeit erregten.

Es handelte sich um Kaninchen, welche man nach Beendigung der Experimente ruhig weiterleben ließ, und zwar alle in derselben Umgebung. Es begann sich nun bei ihnen eine langsame, aber fortschreitende Abnahme des Körpergewichts bis zu ihrem Tode bemerkbar zu machen, der stets infolge einer fibrinös-eiterig-hämorrhagischen Pleuritis eintrat. Das Pleuraexsudat — manchmal dehnte sich der Prozeß auch auf den Herzbeutel aus — war so reichlich, daß sich Auflagerungen bildeten, die vorwiegend fibrinös waren und eine solche Dicke besaßen, wie man es selten bei Tieren beobachten kann. Das Parenchym der Lungen war konstant hyperämisch und manchmal auch der Sitz von katarrhalischen, entzündlichen Herden. Die Milz hatte eine rotbraune Farbe, ihr Volumen war vergrößert und ihre Konsistenz hart; histologisch zeigte sich eine Schwellung der Follikel und eine Hyperämie der Pulpa.

Aus dem Blute, den Pleuren und dem Milzparenchym der ersten Tiere, deren Tod in der oben erwähnten Weise und unter dem oben geschilderten anatomischen Bilde erfolgt war, suchte ich in großem Maßstabe Kulturen auf den gewöhnlichen Aërobennährmedien anzulegen. Da aber alle diese Kulturen in Gegenwart der Luft vollkommen steril blieben, so tauchte in mir der Gedanke auf, daß es sich hier um einen anaërobischen Keim handeln könnte.

Ich entfernte nun die Luft aus den Röhrchen, welche verschiedene besäte Nährmedien enthielten, und konnte in der Tat die Entwickelung eines Mikroorganismus beobachten, dessen kulturelle, morphologische und pathogene Eigenschaften gegenüber den gewöhnlichen Laboratoriumstieren ich dann eingehend untersuchte.

Morphologische Eigenschaften. Bei wiederholten Untersuchungen sowohl des direkt aus dem infizierten Tiere herstammenden Materiales als auch des in den Kulturen gewachsenen Mikroorganismus erkannte man deutlich kleine Kokken von runder oder etwas länglicher Gestalt, die meistens paarweise zusammenlagen und von einer nach Ehrlichscher und Ziehlscher Methode nachweisbaren Kapsel umgeben waren. Außer den typischen Diplokokkenformen beobachtete ich jedoch auch noch isolierte Keime und ferner einige Kokken, die zu ziemlich kurzen Ketten vereinigt waren; dies alles sah ich aber ziemlich selten,

und dann besonders in einem Material, das aus verschiedenen Passagen durch künstliche Nährmedien herrührte. In allen diesen eben beschriebenen Formen färbte sich der Mikroorganismus konstant nach der Gramschen Methode.

Kulturelle Eigenschaften. In einfacher, in Glukose- und in Laktosebouillon mit Calciumkarbonat beobachtete ich Opaleszenz und eine, wenn auch im allgemeinen schwache Färbung. Am Boden der Röhrchen sah man dagegen ein ziemlich reichliches Sediment, das entweder ein staubförmiges Aussehen hatte oder, was häufiger der Fall war, aus Flocken, Lamellen und Membranen bestand. Die Entwickelung war weniger üppig in einfacher Bouillon, stärker dagegen, wenn man ihr Laktose oder Glukose hinzugefügt hatte.

Auf einfachem, auf Glukose- und auf Glycerinagar zeigten sich bei Srtichkulturen auf der Oberfläche des Nährbodens rundliche, erhabene und transparente Kolonieen, die ein tautropfenähnliches Aussehen hatten und isoliert standen; sie waren auf einfachem und auf Glukoseagar zahlreicher als auf Glycerinagar. Ziemlich selten waren sie opak oder flossen in mehr oder weniger starkem Maße zusammen.

Die Entwickelung nahm in Stichkulturen auf denselben Medien (die geimpfte Agarschicht wurde mit einer anderen, sterilen bedeckt) einen etwas verschiedenen Verlauf, je nachdem man Glycerin-, Glukose- oder einfachen Agar verwandte. Auf Glycerinagar bemerkte man meistens eine opake, ununterbrochene Linie, die der ganzen Länge des Impfstiches entsprach; auf einfachem und Glukoseagar dagegen breitete sich die Kultur seitlich von der Impflinie nur in einer einzigen Ebene aus, so daß sie, gegen das Licht gehalten, wie eiu dünnes Segel, oft aber auch wie eine Stickerei mit ziemlich dichten Maschen erschien, deren Konturen gewöhnlich ausgezackt waren. Manchmal konnte man eine, wenn auch spärliche und unregelmäßige Entwickelung in den unteren Partieen der darübergegossenen Agarschicht beobachten (bald kleine, weißliche, rundliche, isolierte Kolonieen und bald Formen, die den oben beschriebenen beinahe gleich waren). Zwischen den beiden Schichten des Nährmediums, nämlich zwischen dem Agar, in dem die Impfung vorgenommen war, und dem später darübergegossenen, bildete sich oft eine opake, weißliche, scheibenförmige Haut. Ich konnte ferner bemerken, daß die Kulturen, die sich längs der Impflinie entwickelt hatten, nach längerem Aufenthalte im Brutschranke blasser wurden, ja manchmal kaum wahrzunehmen waren; in anderen Fällen wieder nahmen sie in ihren zentralen Teilen eine bräunliche Farbe an.

Bei Ueberimpfung des Mikroorganismus auf Milch fand eine teilweise Gerinnung derselben statt.

Peptonwasser nahm ein kaum opaleszierendes Aussehen an; auch der Niederschlag am Boden dieser Kulturen war nur spärlich und in Gestalt feiner Staubkörnchen. Beim Schütteln der Gläschen entwickelten sich ganz feine Spiralen, die dann rasch wieder zu Boden sanken.

Auf Gelatine bei 20° und auf Kartoffeln bei 37° entwickelten sich die Kulturen nicht.

Auf Rinderserum und auf Serumagar dagegen war die Entwickelung sehr rasch und sehr kräftig. Die Flüssigkeit wurde opaleszierend und trübte sich rasch; am Boden des Röhrchens oder an den oberen Teilen des Serums entstand ein reichlicher lamellöser Niederschlag; das Nährmedium sah verdichtet, fast gelatinös aus, so daß es fast wie geronnen erschien. Dies waren so die auffälligen Eigenschaften im

Blutserum. Fügte ich nun zu dem Serum Agar hinzu, so konnte ich bei Strich- und bei Stichkulturen die gleichen Ergebnisse wie beim einfachen Agar erhalten, aber die Entwickelung war rascher und reichlicher.

Schließlich muß ich noch bemerken, daß, während alle bisher angewandten Nährböden eine leicht alkalische Reaktion hatten, ich mich auch einiger Röhrchen bediente, die neutrale Laktosebouillon mit einem Zusatze von Lackmus enthielten. 24 Stunden nach der Besäung nahmen nahmen sie rote Farbe an; später wurde die Farbe rosarot und manchmal trat eine vollkommene Entfärbung ein.

Am Schlusse dieses kurzen Ueberblickes über die kulturellen Charaktere möchte ich noch bemerken, daß die erste Andeutung einer Entwickelung in über hundert Impfversuchen im allgemeinen nach 24 bis 48 Stunden beobachtet wurde, wenn man die Nährmedien bei einer konstanten Temperatur von 37° im Brutschranke hielt; nur zwei Kulturflüssigkeiten, nämlich Milch und Peptonwasser, machten eine Ausnahme; bei ihnen trat die Entwickelung erst nach 4—5 Tagen auf.

Pathogene Wirkung auf Tiere. Um die Untersuchungen über den oben beschriebenen anaërobischen Kapseldiplococcus zu vervollständigen, impfte ich ihn Tieren in Reinkulturen ein. Ganz besonders diente das Kaninchen diesem Zwecke, ich zog jedoch auch Mäuse, Meerschweinchen, Hunde und Tauben zu meinen Untersuchungen heran; im ganzen opferte ich 50 Tiere. Ich nahm an erster Stelle Injektionen in die Pleurahöhle vor, da ich aus dieser den Mikroorganismus isoliert hatte, dann in die Bauchhöhle, die Gelenkhöhlen, die vordere Augenkammer, in den Magen mittels Sonde, ferner in das subkutane Zellgewebe und schließlich in die Ohrvene.

Kaninchen. Ganz junge, kaum entwickelte Bouillonkulturen, die von direkten Verimpfungen eines Pleuraexsudates eines anderen Tieres herrührten, wurden in verschiedenen Dosen von den kleinsten Quantitäten, wie $^1/_{100}$ ccm, an bis 2 ccm in die Pleura injiziert und führten stets beim Kaninchen den Tod in 24 Stunden herbei. Das Tier saß unbeweglich mit struppigem Fell da und zeigte eine starke Verlangsamung in der Atmung und oft — kurz vor dem Tode — klonische Krämpfe der Glieder und des Kopfes. Es gelang mir auch, das Tier am Leben zu erhalten (bis zu 10 Tagen) dadurch, daß ich die Menge des Impfmateriales bis zu $^1/_{500}$ ccm verminderte oder, besser noch, die Virulenz des Keimes abschwächte, letzteres erreichte ich auf dem Wege wiederholter Passagen durch künstliche Kulturmedien, durch weniger empfängliche Tiere (Meerschweinchen) und durch Verimpfung in die Gelenkhöhlen und das subkutane Zellgewebe der Kaninchen selbst. Ich war so nahe daran — ohne es jedoch ganz zu erreichen — auf experimentellem Wege jene Form von fibrinöser Pleuritis zu erzeugen, die bei einigen Kaninchen, wie gesagt, von selbst entstanden war.

Die Autopsie und die histo-pathologische Untersuchung der Eingeweide ergaben — wenn man von den durch die längere oder kürzere Versuchsdauer bedingten Unterschieden absieht — fast gleiche Resultate. Die Entzündungserscheinungen an der Pleura waren konstant; sie schwankten zwischen Formen seröser und sero-fibrinöser Pleuritis, die man am seltensten sah, und fibrinös-eiterigen und fibrinös-eiterig-hämorrhagischen Formen, von denen man die letzteren am häufigsten antraf. Im Lungenparenchym bemerkte ich auch Entzündungserscheinungen, jedoch waren sie nicht immer vorhanden (oft handelte es sich nur um eine einfache Kongestion) und dann auch nur in umschriebenen Herden.

Das Exsudat, das sich in den kleinen Bronchen und den Lungenalveolen fand, war auch vorwiegend fibrinös-hämorrhagisch. Das Myokard war in den meisten Fällen schlaff und zeigte dann bei der histologischen Untersuchung Veränderungen in den Muskelfasern (trübe Schwellung). Fibrinöshämorrhagische Pericarditis, Mediastinitis, Mediastinopericarditis und multiple Hämorrhagieen der Thymus waren Erscheinungen, die sich zwar häufig, aber nicht konstant vorfanden. Das Peritoneum beteiligte sich oft an dem infektiösen Prozesse, und zwar hatte das fibrinös-eiterige Exsudat am visceralen Blatte einen stark hämorrhagischen Charakter. Die Milz war konstant geschwollen und rotbraun, dabei waren die Follikel oft schon mit bloßem Auge sichtbar; in der Tat ergab die histologische Untersuchung außer einer starken Vermehrung des Blutgehaltes der Pulpa eine starke Anschwellung der Follikel. Ferner fanden sich eine akute parenchymatöse Nephritis mit manchmal ganz hämorrhagischem Typus, multiple punktförmige Hämorrhagieen der Nebennieren, Hyperämie der Leber und hyperämische und auch entzündliche Erscheinungen der weichen Hirnhäute. Alle diese Veränderungen vervollständigten oft das anatomische Bild der so geimpften Tiere.

Die bei der Autopsie angelegten Kulturen ergaben ein positives Resultat für die Pleura, das Peritoneum, das Blut und oft auch für die Milz, die Meningen und das Rückenmark, seltener dagegen für das Knochenmark. Aus dem Blute derjenigen Tiere, die einige Tage am Leben geblieben waren, konnte ich oft mit positivem Resultate 24 Stunden nach der Inokulation den Diplococcus kultivieren.

Mit Hilfe der Färbung mit Phenylthionin (Nicollesche Methode) läßt sich der Diplococcus in den verschiedenen Eingeweiden dieser Tiere, besonders im Lungen- und Milzparenchym, nachweisen.

Die Injektionen in die Bauchhöhle führten in symptomatologischer, anatomischer und bakteriologischer Hinsicht fast immer zu dem gleichen Ergebnisse. Die Exsudate hatten natürlich stets ihren Sitz auf den serösen Flächen der Bauchhöhle; die Pleuren zeigten dagegen nur eine sehr kleine Menge von Exsudat, das sehr häufig einen serösen Charakter trug.

Die zahlreichen Kaninchen, in deren Kniegelenke ich Verimpfungen vorgenommen hatte, starben nach 2—5—10 Tagen, und zwar zeigten sie eiterige Gelenkentzündungen mit reichlichem Exsudat. Bei der Untersuchung der Bauch- und Brusteingeweide fand man entweder gar keine irgendwie erheblichen Veränderungen oder nur spärliche hyperämische und entzündliche Erscheinungen, die sich hauptsächlich im Lungenparenchym lokalisierten. Nur ein einziges Mal gelang es mir, einen großen, metastatischen Nierenabsceß festzustellen. Die Kulturen lieferten außer dem Gelenkeiter auch aus dem Blute fast immer positive Resultate.

Die Injektion des Diplococcus in die vordere Augenkammer erzeugte eine eiterige Iritis mit Bildung eines Hypopyon, und zwar konnte man dies 36—48 Stunden nach dem Versuche sowohl makroskopisch am lebenden Tiere, als auch mikroskopisch an den nach diesen Zeiträumen getöteten Tieren feststellen.

Wiederholte, mittels Sonde ausgeführte Inokulationen von mehreren Kubikcentimetern Kultur in den Magen des Kaninchens töteten es nicht. Bei der Sektion dieser Tiere, die nach einiger Zeit (in einigen Fällen nach mehr als einem Monate) geopfert wurden, fand ich Magenblutungen, die durch eine Anschwellung der Schleimhaut charakterisiert waren;

diese war außerdem mit zahlreichen, rundlichen Flecken bedeckt, die einen rein hämorrhagischen Charakter zeigten.

Die Injektionen in das subkutane Zellgewebe verliefen im allgemeinen beim Kaninchen nicht tödlich. Es bildeten sich große subkutane Abscesse, in welchen die Infektion sozusagen lokalisiert blieb. Seltener dagegen — fast immer jedoch nach einem Zwischenraume von einigen Tagen — trat der Tod des Tieres infolge von Septikämie ein.

Auf die endovenösen Injektionen beim Kaninchen will ich nur kurz hinweisen, da sie immer den Tod des Tieres in weniger als 24 Stunden herbeiführten; bei der Autopsie fand man dann Zustände von diffuser Hyperämie der Eingeweide und nur selten Exsudatherde im Parenchym der verschiedenen Organe.

Maus. Subkutane und intraperitoneale Injektionen führten stets in wenigen Stunden bei kleinen Mäusen (ich bediente mich der weißen Varietät von Mus musculus) den Tod infolge von Septikämie herbei; letztere konnte ich mittels Kulturen und der bakterioskopischen Untersuchung feststellen. Histologisch fand ich in den Eingeweiden degenerative Veränderungen, die von hyperämischen Erscheinungen und manchmal auch von entzündlichen Exsudaten begleitet waren.

Meerschweinchen. Dieses Tier zeigte sich viel weniger empfänglich für die Diplokokkeninfektion als das Kaninchen. Die Injektionen, die bei Meerschweinchen in derselben Weise und demselben Verhältnisse zum Körpergewichte wie beim Kaninchen vorgenommen wurden, ließen die Tiere länger am Leben bleiben; der histologische und bakteriologische Befund war übrigens fast der gleiche.

Hund. Er zeigte sich sogar reichlichen und wiederholten Injektionen von Diplokokken gegenüber fast vollkommen refraktär.

Taube. Sie war auch für im Verhältnisse zu ihrem Körpergewichte sehr große Dosen des erwähnten Mikroorganismus niemals empfänglich.

Zum Schlusse wollte ich noch am tierischen Organismus die Giftigkeit des Filtrates der Kulturen studieren. Zu diesem Zwecke filtrierte ich durch Berkefeld-Kerzen ganz junge Bouillonkulturen (von 24 bis 48 Stunden) und ältere (über einen Monat alt). Ich injizierte die so erhaltenen Flüssigkeiten in ziemlich großen Mengen (10—15 ccm), aber in fraktionierter Dosis einigen Kaninchen in das subkutane Gewebe und in die Bauchhöhle. Die Tiere starben nicht und zeigten auch keine erhebliche Verschlechterung ihres allgemeinen Ernährungszustandes. Bei ihrer 10—20 Tage später vorgenommenen Sektion fand man an ihren Organen keine andere Veränderung, als eine ziemlich deutlich ausgeprägte Hypertrophie der Nebennieren, die aber bei der histologischen Untersuchung keinen besonderen Befund aufwiesen.

* * *

Seinen morphologischen und kulturellen Eigenschaften und seiner pathogenen Wirkung auf die Tiere nach ist der von mir isolierte Keim augenscheinlich der Fränkelsche Diplococcus oder wenigstens eine ihm sehr nahe verwandte Varietät.

Nur eine einzige biologische Eigenschaft — gerade diejenige, welche mich eben zur Veröffentlichung meiner Beobachtung bewegte, — könnte einen von vornherein in der Diagnose schwankend machen: nämlich die obligate Anaërobiose dieses kapseltragenden Diplococcus.

Zu diesem Punkte muß ich jedoch sogleich folgendes bemerken: Wenn ich auch fast während meiner ganzen Versuchszeit nur anaërobe Kulturen erhalten konnte, so gelang es mir doch, aus dem letzten Material, das sowohl von dem künstlichen Nährboden als auch aus dem Organismus des Tieres selbst herrührte, den Diplococcus nach einigen Versuchen — wenn auch sehr spärlich — in Gegenwart von Luft zu kultivieren.

Daß ferner der Pneumococcus außer in aërobischer Weise auch anaërobisch leben und sich vermehren kann, ist eine ganz bekannte Sache. Die Autoren, die sich mit diesem Gegenstande beschäftigen, glauben sogar, daß der Pneumoniediplococcus in anaërobischer Kultur sich üppiger entwickelt, größere Virulenz zeigt und seine für den tierischen Organismus pathogenen Eigenschaften länger bewahrt.

Eine Tatsache jedoch, die sicherlich nicht unwichtig ist, geht aus meinem Studium hervor, das ich bei der epidemischen Pleuritis, die ich zu beobachten Gelegenheit hatte, systematisch durchgeführt habe: Der Fränkelsche Pneumococcus kann unter besonderen Bedingungen des Lebens und der Umgebung ein obligater Anaërobe werden.

Und ferner ist es nicht unwahrscheinlich — es sei mir gestattet, meine Arbeit mit der Aufstellung einer Hypothese zu schließen — daß auch beim Menschen einige der heute als steril bezeichneten Pleuraexsudate manchmal durch einen Kapseldiplococcus verursacht sein können, der vom Typus des Fränkelschen ist, aber in einer bestimmten Periode seines Lebens ein streng anaërobisches Leben führt.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Aus dem Pleuraexsudat eines Kaninchens, das spontan an fibrinös-eiteriger Pleuritis gestorben ist (Stichkultur in einfachem Agar, der mit anderem Agar bedeckt ist).

Fig. 2. Aus dem Pleuraexsudat eines Kaninchens, das spontan an fibrinös-eiteriger Pleuritis gestorben ist (Stichkultur in einfachem Agar, der mit anderem Agar bedeckt ist).

Fig. 3. Aus dem Peritonealexsudat eines Kaninchens, das infolge einer Verimpfung des Diplococcus in die Pleurahöhle gestorben ist (Stichkultur in einfachem Agar, der mit anderem Agar bedeckt ist).

Fig. 4. Aus dem Peritonealexsudat eines Kaninchens, das infolge einer Verimpfung des Diplococcus in die Pleurahöhle gestorben ist (Stichkultur in Glycerinagar, der mit anderem Agar bedeckt ist).

Fig. 5. Aus dem Pleuraexsudat eines Kaninchens, das infolge einer Verimpfung des Diplococcus in die Pleurahöhle gestorben ist (Stichkultur in Glycerinagar, der mit anderem Agar bedeckt ist).

Fig. 6. Aus dem Pleuraexsudat eines Kaninchens, das infolge einer Verimpfung des Diplococcus in die Pleurahöhle gestorben ist (Stichkultur in einfachem Agar, der mit anderem Agar bedeckt ist).

Fig. 7. Aus dem Gelenkeiter eines Kaninchens, das infolge einer Verimpfung des Diplococcus in die Gelenkhöhlen gestorben ist (Stichkultur in einfachem Agar, der mit anderem Agar bedeckt ist).

Fig. 8. Aus dem Gelenkeiter eines Kaninchens, das infolge einer Verimpfung des Diplococcus in die Gelenkhöhlen gestorben ist (Stichkultur in Glukoseagar, der mit anderem Agar bedeckt ist).


Fig. 1.


Fig. 2.


Fig. 3.


Fig. 4.

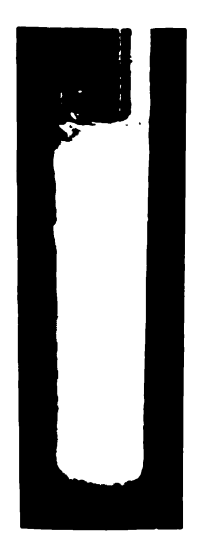

Fig. 5.


Fig. 6.


Fig. 7.


Fig. 8.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute (Vorstand: Professor Dr. A. Weichselbaum) und dem Karolinen-Kinderspitale (Vorstand: Privatdozent Dr. W. Knöpfelmacher) in Wien.]

VI. Ueber anaërobe Bakterien bei Diphtherie.

Von Dr. **Karl Leiner,** emerit. Assistent des Karolinen-Kinderspitales.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Etwas ähnliches läßt sich auch bei der Untersuchung der fötiden Diphtherie beobachten. Auch hier sind besonders die ulcerösen Stellen der Beläge reich an Bakterien, zu deren Differenzierung sich die Gramsche Methode besonders eignet. Ebenso wie Bernheim habe ich von verschiedenen Stellen des Rachens die Beläge untersucht, da die Bilder je nach der Beschaffenheit des Belages verschieden sind. Während wir in dem rein fibrinösen Belage hauptsächlich nur eine Art von Stäbchen (Diphtheriebacillen) und Kokken finden, enthalten die nekrotisch veränderten, schmierigen Membranen eine Unmasse von Mikroorganismen, die zunächst in die zwei Hauptgruppen getrennt werden können, Mikroorganismen, die die Gramsche Färbung behalten und solche, die die Kontrastfärbung annehmen. Nach Gram gefärbt, fallen uns zunächst Bakterien auf, die ihrer Größe und Lagerung nach den Diphtheriestäbchen gleichen; daneben sind Bacillen vorhanden, die oft doppelt so lang sind als der Diphtheriebacillus, häufig als Diplobacillus gelagert erscheinen und in ihrer Form, der spindelförmigen Auftreibung in der Mitte, den zugespitzten Enden, dem Bacillus fusiformis gleichen. Neben dieser langen Form ist auch die kurze, gekrümmte, kommaähnliche häufig anzutreffen. Neben den Stäbchen sind auch reichlichst Kokken in verschiedener Gruppierung und verschiedener Größe in den Präparaten vorhanden. Gramnegativ erscheinen in den Präparaten nadelförmige, spitz zulaufende Stäbchen, die bisweilen nur wenig länger als Diphtheriebacillen sind, bisweilen aber längere Fäden bilden; außerdem sind negativ nach Gram Spirochäten gefärbt, ihrem Aussehen nach der Spirochaete denticola Miller entsprechend. Mitunter finden sich auch kleinste, in Haufen gruppierte Kokken neben den eben beschriebenen Mikroorganismen vor. Das Zahlenverhältnis der einzelnen Bakterien ist beinahe in jedem Falle ein verschiedenartiges, doch überwiegen im allgemeinen die diphtherieähnlichen Stäbchen und Kokken.

Selbstverständlich ist mit den eben angeführten Bakterien die Flora nicht immer vollständig erschöpft, in dem einen oder anderen Falle lassen sich auch noch andere Arten von Bakterien nachweisen. Mit den in gewöhnlicher Weise angelegten Kulturen (Loeffler-Serum, Agarnährboden) lassen sich nur eine kleine Anzahl von Mikroorganismen nachweisen, vor allem nur die aërob wachsenden Bakterien; dagegen bleibt mit dieser Methode eine ganze Reihe von in den Membranen vorhandenen Bakterien unbestimmt. Es ist daher der Gedanke naheliegend, daß es sich hier um Anaërobe handeln dürfte. Mein Bestreben

ging nun dahin, diese Mikroorganismen kulturell zu isolieren und ihre eventuelle Bedeutung bei dem Diphtherieprozesse zu erforschen.

Der Vorgang der Untersuchung war folgender: Es wurde ein kleines Membranstückchen mit einigen Tropfen Bouillon in einer sterilen Petri-Schale zerrieben und von dieser Emulsion aërob und anaërob gezüchtet.

Zur aëroben Züchtung verwendete ich Loeffler-Serum und Agarstrichplatten; bei Verwendung von Loeffler-Serum allein empfiehlt es sich, mehrere Kulturen nach der Verdünnungsmethode anzulegen, da in den ersten Röhrchen infolge von üppigem Wachstum der Kokken die Diphtheriebacillen nur schwer oder gar nicht nachgewiesen werden können.

Zur anaëroben Züchtung benutzte ich hochgeschichteten Serumagar (etwa 3 ccm Serum, gewöhnlich Ascitesflüssigkeit auf ein Agarröhrchen). In manchen Fällen wurde auch hochgeschichteter Zuckeragar allein oder neben dem Serumagar verwendet. Nach der gewöhnlichen Verdünnungsmethode würden ca. 10 Schüttelkulturen angelegt, dieselben nach der Impfung durch Einstellen in kaltes Wasser zu raschem Erstarren gebracht, mit Agar hierauf überschichtet und in den Brutofen bei 37° C gestellt. Es ist mir auf diese Weise gelungen, verschiedene anaërobe Bakterien aus einer Reihe von Diphtheriefällen rein zu züchten. In 2 Fällen gelang mir die Reinkultivierung von einem Bacillus, der dem Bacillus fusiformis nahezustehen scheint, vielleicht mit demselben zu einer Gruppe gehört.

In beiden Fällen handelte es sich um sogenannte septische Diphtherie. Der Verlauf der Krankheit war folgender:

Fall I. J. G., 5 Jahre alt; am 9. April 1905 aufgenommen, gestorben am 9. April.

Klinische Diagnose: Diphtheria septica.

Status: Dem Alter entsprechend ziemlich großes, gut genährtes Kind, von schlaffer Muskulatur und mäßig gut entwickeltem Fettpolster.

Die Haut fahl, die Lippen, Finger und Zehen cyanotisch; der ganze Körper mit zahlreichen, lebhaft roten bis dunkelvioletten, stecknadelkopf- bis hanfkorngroßen, im Hautniveau liegenden Blutungen bedeckt. Die Haut an dem Halse ist durch Konfluenz der Blutpunkte diffus lividrot verfärbt. Ein Teil der Blutungen ist bereits älteren Datums und zeigt dunkelbraune Pigmentierung.

Aus der Nase ein schmutzig-seröser, übelriechender Ausfluß; am Naseneingange Blutborken. Die Wangenschleimhaut blaß, mit Blutpunkten besetzt.

Die Zunge dick belegt, der weiche Gaumen beiderseits vorgewölbt.

Die Tonsillen stark geschwollen, bedeckt mit schmierigen, graugrünen, schmutzigbraunen, konfluierenden Membranfetzen. Die Tonsillenoberfläche ist ulcerös zerklüftet.

Die Uvula ist vollkommen umschlossen von einem fibrinösen, schmutzig-grauen Belag. Die hintere Rachenwand infolge der starken Tonsillenschwellung nicht sichtbar.

Die Atmung schnarchend, der Mund kann nur wenig geöffnet werden (Trismus der Kiefer).

Starker Foetor ex ore.

Die Halsdrüsen, stark geschwollen, reichen von der Hinterohrgegend bis an die Mitte des horizontalen Unterkieferastes.

Lungenbefund normal, die Herztöne leise, rein.

Puls: 140. Die Atmung beschleunigt, oberflächlich, arhythmisch.

Allgemeinbefinden schlecht, starke Somnolenz.

Die Sektionsdiagnose (Dozent Störk) lautet: Nekrotisierende (diphtheritische) Entzündung der Tonsillen, des Pharynx und der oberen Larynxhälfte; hämorrhagische Diathese, Petechien der Haut; vereinzelte Blutungen in der Magen- und Darmschleimhaut; sehr zahlreiche Parenchymblutungen der Lungen. Trübe Schwellung der Parenchyme. Follikulärer Milztumor.

Fall II. L. M., 12 Jahre alt. Protokoll 619. Aufgenommen am 21. Juli 1905, geheilt entlassen am 4. August.

Klinische Diagnose: Diphtheria septica.

Rachenbefund: Die Zunge ist dick belegt, der weiche Gaumen beiderseits stark vorgewölbt, die rechte Tonsille hochgradig geschwollen, das Zäpfchen stark gerötet, ödematös. Der Belag, welcher die ganze Tonsillenoberfläche bedeckt und auf den vorderen Gaumenbogen übergreift, ist von schmutzig-grauer bis grauschwärzlicher Farbe.

Auch die linke Tonsille ist gleichfalls, aber in geringerem Grade geschwollen und mit grauweißen, fibrinösen Belägen bedeckt. Beim Oeffnen des Mundes besteht starker Trismus.

Starker Foetor ex ore.

Injektion von 2mal 1500 A.-E. in den 2 ersten Tagen der Erkrankung.

Eine Incision in das peritonsilläre Gewebe rechts ergibt keinen Eiter.

Die submaxillaren Drüsen beiderseits vergrößert, schmerzhaft.

Das Allgemeinbefinden des Kindes ist ziemlich schlecht; es bestehe hochgradige Mattigkeit und Brechreiz. Temperatur 40° C, Puls 100. Im Urin Nukleo- und Serumalbumin.

23. Juli. Das Oedem des weichen Gaumens ist etwas zurückgegangen, die Beläge locker, unverändert. Brechreiz noch vorhanden. Pulsspannung noch niedrig.

Innerhalb von ca. 5 Tagen sind die Beläge vollständig geschwunden, das Allgemeinbefinden gebessert.

Beim Entlassen des Kindes aus dem Spitale am 4. Aug. ist eine deutliche Gaumensegelparese vorhanden; zugleich ist die Herzaktion etwas arhythmisch, die Reflexe normal lebhaft. (Das Kind wurde auf Verlangen in häusliche Pflege übergeben und war nach ca. 3 Wochen vollständig genesen.)

In beiden Fällen ergab die Untersuchung der Membranen und die anaërobe Züchtung das gleiche Resultat, über das ich hiermit berichten will:

Die nach Gram gefärbten Präparate enthielten reichliche Bakterien, und zwar grampositive Kokken, zum Teil als Diplokokken, zum Teil in kurzen Ketten gelagert, dann grampositive kurze Stäbchen, in ihrer Form und Gruppierung den Diphtheriebacillen ähnlich; außerdem einen grampositiven, kleinen, typischen Vibrio, grampositive, dünne Fäden, gerade oder geschlungen und mäßig spärliche grampositive Bacillen mit zugespitzten Enden vom Typus des Fusiformis; gramnegative, sehr kleine Bacillen und kleinste gramnegative, kokkenartige Formen, mäßig reichliche, sehr zarte Spirochäten mit flachen Windungen und reichliche dünne, kristallnadelähnliche, an beiden Enden zugespitzte Bacillen, gerade oder leicht gebogen, büschelförmig gruppiert, oft als Diplobacillen gelagert (Fig. 1).

In beiden Fällen enthielten die Präparate wenig oder kein Fibrin und einen spärlichen zelligen Detritus. Die aërobe Züchtung ergab in beiden Fällen spärliche Staphylokokken, reichliche Streptokokken und reichliche Diphtheriebacillen. Die Virulenz der letzteren wurde im Tierexperiment nachgewiesen. Zur anaëroben Züchtung wurde in 10 Serumagarröhrchen geimpft. Schon nach 48 Stunden ist es in einem Teile der Röhrchen zu üppigem Wachstum gekommen; der Nährboden ist stark getrübt, zum Teil weicher geworden, zum Teil ist es zur Entwickelung von Gasblasen gekommen. Sämtlichen Röhrchen entströmt ein widerlicher Geruch, der an den Geruch der ulcerösen Mundentzündungen erinnert. In einzelnen Röhrchen, in denen es nicht zur Vergärung gekommen ist, lassen sich hauptsächlich 2 Arten von Kolonieen unterscheiden, nämlich kleine, punktförmige Kolonieen, die zum Teil die Trübung des Nährbodens verursachen und die sowohl in den oberflächlichen wie tiefen Schichten des Nährbodens gewachsen sind, und zweitens: große, scheibenförmige, auch linsenförmige, graue, mattglänzende Kolonieen, die besonders reichlich in den tiefen Schichten des Nährbodens gewachsen sind.

Die kleinen, punktförmigen Kolonieen bestehen aus grampositiven Kokken, die sich aërob weiterzüchten lassen und als Streptokokken erweisen.

Die großen Kolonieen bestehen noch aus einem Gemenge von Mikroorganismen, und zwar zum größten Teil aus schlanken, spitzen, oft

büschelförmig angeordneten, gramnegativen Bacillen, aus spärlichen grampositiven, spindelförmigen Bacillen und aus grampositiven und -negativen Kokken (Fig. 2 gibt das Bild einer solchen Kolonie, die nur spitze Bacillen und Kokken enthält). In einzelnen Kolonieen waren auch ziemlich reichliche gramnegative Spirochäten zu sehen.

Von diesen Kolonieen wurde nun aërob und anaërob weitergezüchtet. Die aërobe Züchtung ergab zum größten Teil Streptokokken, vereinzelte Kolonieen von Staphylococcus pyogenes aureus. Zur Isolierung der in den Kolonieen vorhandenen aërob nicht wachsenden Stäbchen wurden verschiedene Methoden versucht. Es wurde zunächst ein mit einer solchen Kolonie beschicktes Agarröhrchen auf 65° erwärmt und durch $^1/_2$ Stunde bei dieser Temperatur gehalten. Es gelang mir nicht, mittels dieser Pasteurisierung eine Reinkultur von diesen Bacillen zu bekommen, da die Kokken sich widerstandsfähiger gegen höhere Temperaturen erwiesen als die Bacillen. Auch das Tierexperiment führte zu keinem positiven Resultate. Es wurden einige Kubikcentimeter einer mit den Kolonieen bereiteten Aufschwemmung subkutan und intraperitoneal Mäusen injiziert, doch kam es niemals zur Absceßbildung, noch auch zum Exitus der Tiere.

Ich mußte deshalb weiterversuchen, mittels der gewöhnlichen Verdünnungsmethode zu einem Resultate zu kommen. Nach monatelangem Ueberimpfen gelang es mir, eine Reinkultur von den in den Anfangskolonieen reichlichst vorhandenen schlanken, spitzen Stäbchen zu erhalten (Fig. 3). Ihr Wachstum in den verschiedenen Nährböden verhält sich folgendermaßen: Der Bacillus gedeiht nur bei Brutofentemperatur und ist ein streng anaërober. Er wächst fast in allen gewöhnlichen Nährböden. In Serumagarstich kommt es nach ca. 3 Tagen zu einem ziemlich üppigen Wachstum, das einige Centimeter von der Agaroberfläche entfernt beginnt. In der Tiefe sind die Kolonieen größer und opaker als in den höheren Schichten des Nährbodens. Mit der Lupe untersucht, sind die kleinen Kolonieen an der Peripherie leicht durchscheinend, der Rand oft mit feinen, zahnartigen Fortsätzen von ungleicher Größe besetzt. Die großen Kolonieen sind dunkelbraun, opak, am Rande grobkörnig, von welchem granulierte Ausläufer und Zacken in die nächste Umgebung hineinwuchern.

Am üppigsten gedeiht der Bacillus in Traubenzuckeragar, in welchem schon nach 24 Stunden punktförmige Kolonieen zu sehen sind. Nach einigen Tagen bilden die Kolonieen ziemlich große Scheiben von grauer Farbe, die ca. 1 mm und mehr im Durchmesser haben.

In Agar kommt es nach 2—3 Tagen nur in der Tiefe des Nährbodens zur Entwickelung von kleinen grauen, granulierten, am Rande oft welligen Kolonieen.

In Milchzuckerlackmusagar erfolgt das Wachstum langsam mit Aufhellung des blauen Farbentones des Nährbodens von der Tiefe her.

In Zuckerbouillonkolben bildet sich nach 3 Tagen ein starker schleimiger, flockiger, grauer Bodensatz. Die im bauchigen Teil des Kolbens befindliche Flüssigkeit ist leicht getrübt, während die im langen Halse befindliche immer klar bleibt.

Auch in Bouillonkolben ohne Zuckerzusatz kommt es zu gleichem Wachstum.

In Milchkolben erfolgt kein Wachstum, erst bei Zusatz von $CaCO_3$ erfolgt nach einigen Tagen Wachstum unter Bildung eines lockeren Gerinnsels, das nicht gelöst wird.

In gewöhnlicher Gelatine kein Wachstum im Gelatineofen.

In Zuckergelatine kommt es im Brutofen bei 37° C nach einigen Tagen zum Wachstum in Form eines feinkörnigen Bodensatzes und einer leichten Trübung des überschichteten Nährbodens. Beim Einstellen der Gelatineröhrchen, in denen es zum Wachstum gekommen ist, in kaltes Wasser erstarrt die Gelatine rasch wieder.

Es kommt in keinem der Nährböden zur Vergärung. Die zu diesem Behufe mit den verschiedenen Zuckerarten (Rohrzucker, Fruchtzucker, Milchzucker, Mannit, Maltose, Galaktose) mit und ohne Zusatz von Pepton hergestellten Nährböden führten sämtlich bezüglich der Vergärung zu einem negativen Resultate, während es in allen zu einem ziemlich üppigen Wachstum kam [1]).

In eiweißfreien Nährböden und in Peptonwasser kommt es niemals zum Wachstum.

Auf Agarstrichplatten konnte bisher nach der Methode von Ghon-Sachs kein Wachstum erzielt werden. Dagegen konnte ich einigemal schönes Wachstum nach der neuerdings von Passini angegebenen Methode erzielen. Auf gewöhnlichen Agarplatten (in diesem Falle Zuckeragar) wird das Nährmaterial verstrichen und auf die Agarfläche ein großes Deckglas (so ziemlich von der Größe der Agarplatte) gebreitet und ganz leicht angedrückt. Nach ca. 3–4 Tagen ist bereits Wachstum zu beobachten, besonders in der Mitte der Agarplatte. Auch isolierte Kolonieen sind vorhanden, die im auffallenden Lichte von grauer, im durchfallenden Lichte im Zentrum von bräunlicher Farbe sind. Mit der Lupe untersucht, besteht die Kolonie aus einer opaken bräunlichen, zentralen und einer peripheren faserigen, grau durchscheinenden Partie.

Bei schwacher Vergrößerung (Zeiss, Ok. 3 A) ist fast die ganze Kolonie bräunlich gefärbt; nur eine schmale Randzone ist ungefärbt bis leicht gelblich.

Der zentrale dunkelbraune Anteil hat eine grobkörnige bis kleinschollige Struktur, geht in eine breite noch dunkle, grobwellige, äußere Zone über (haarlockenähnlich), an die sich erst die periphere, fein granulierte Partie anschließt.

Beim Oeffnen der Platte intensiver, scharfer, unangenehmer Geruch.

Seine Lebensdauer im Brutschrank beträgt ca. 3 Wochen.

Sämtliche Nährböden, in denen dieser Bacillus gedeiht, besonders aber der Zuckeragar und die Zuckerbouillon, verbreiten einen unangenehmen, widerlichen Geruch.

Im hängenden Tropfen untersucht, zeigt der Bacillus eine mehr oder weniger lebhafte Molekularbewegung, allein niemals eine Eigenbewegung.

In den nach Gram gefärbten Präparaten zeigt der Bacillus folgendes Verhalten: Er bildet an beiden Enden spitz zulaufende Stäbchen, die immer, auch wenn die Präparate von ganz jungen Kulturen angefertigt sind, die Kontrastfarbe annehmen. Seiner Größe nach ist er sehr variabel, bisweilen kurz, beiläufig von der Größe des Diphtheriebacillus, bisweilen aber um vieles größer, oft zu langen Fäden ausgewachsen. Die Bacillen sind häufig der Länge nach zu zweien aneinandergelagert (Diplobacillen), mitunter büschelförmig gruppiert, nach Art von Kristallnadeln.

Der Bacillus ist gewöhnlich gerade, nur die längeren, fadenförmigen Formen sind häufig stark gebogen, schlingenförmig. Einigemal wurden

1) Nur ausnahmsweise sah ich in letzter Zeit in Traubenzuckeragar in der Tiefe des Nährbodens vereinzelte kleine Gasbläschen sich entwickeln.

in Zuckeragar stark degenerierte Formen gefunden (Fig. 4). Derartige Präparate sind blaßrot, ungleichmäßig gefärbt, die Stäbchen von ungleichmäßiger Gestalt, oft wie aufgequollen, deutliche Vakuolenbildung zeigend. Sie zeigen in solchen Präparaten bald Keulenformen, Pfeilspitzenformen, oft auch Spermatozoenformen, während die stark gewundenen oft peitschenartig verschlungen sind.

Mitunter äußert sich die Degeneration der Stäbchen nur in der ungleichmäßigen, segmentierten Färbung und einer mehr oder weniger ausgeprägten Vakuolenbildung.

Sporenbildung konnte niemals mit den verschiedenen Färbemethoden nachgewiesen werden.

Die Pathogenität des Bacillus wurde an verschiedenen Tieren geprüft. Mäuse gingen nach subkutaner und intraperitonealer Injektion von 2—1 ccm Zuckerbouillonkultur innerhalb weniger Stunden zu Grunde. Die Tiere waren hochgradig cyanotisch, die Atmung stark beschleunigt, oberflächlich. der Schwanz und die hinteren Extremitäten tonisch gestreckt. Bei der Sektion konnte nichts Besonderes gefunden werden. Injektionen von $^1/_2$ ccm machten die Tiere krank, führten aber niemals zur Absceßbildung oder Nekrose. Die Tiere erholten sich nach 2 Tagen wieder vollständig.

Meerschweinchen und Kaninchen vertrugen die Injektion selbst hoher Dosen (bis 5 ccm) sehr gut.

Auch sämtliche Versuche, durch submuköse Injektionen oder durch Uebertragung des Bacillus auf leicht geätzte Schleimhaut einen der ulcerösen Stomatitis gleichen Prozeß zu erzeugen, schlugen fehl.

Wenn wir nun die Haupteigenschaften unseres Bacillus kurz resumieren, so bestehen dieselben 1) in seinem ziemlich gleichartigen anaëroben (scheibenförmigen) Wachstum auf sämtlichen festen Nährböden, 2) in der Bildung eines schleimig-flockigen Niederschlages in den flüssigen Nährmedien, 3) in der Entwickelung eines widrigen Geruches in allen Nährböden und 4) in seiner schwachen Toxizität im Tierexperiment.

Eine Identifizierung unseres Bacillus in histologischen Präparaten ist mir bis jetzt nicht mit Sicherheit gelungen.

Zur Untersuchung gelangte folgender Fall von septischer Diphtherie:

Fr. R., 5 Jahre alt. Prot.-No. 161. Aufgenommen 19. Febr. 1906, gestorben 22. Febr. 1906.

Klinische Diagnose: Diphtheria septica.

Injektion von 3000 A.-E.

Befund 20. Febr.: Die Haut ist durchsetzt von zahlreichen kleinen Blutungen, sonst von fahlem Kolorit.

Das Gesicht ist stark gedunsen, cyanotisch.

Aus der Nase reichlicher seröser, blutig tingierter Ausfluß. Exkoriationen, mit dünnen Membranen belegt, am Naseneingang. Häufig Nasenbluten.

Die Lippen sind trocken, mit Blutborken bedeckt.

Der weiche Gaumen, Uvula und beide Tonsillen sind stark ödematös und vollständig bedeckt von grauweißen, auch mißfarbigen sulzigen Belägen. Der Aditus pharyngis hochgradigst verengert. Die hintere Rachenwand nicht sichtbar.

Intensiver Foetor ex ore. Starke Drüsenschwellung am Halse. Temp. 37,3°. Puls 136. R. 17. Atmung erschwert, schnarchend. Trismus.

Herztöne rein. Ueber der rechten Lungenspitze Dämpfung, über der bronchiales Atmen mit reichlichen mittelblasigen Rasselgeräuschen zu hören ist.

Die Leber überragt um 2 Querfinger den Rippenbogen, Milz nicht vergrößert.

Im Urin kein Albumen.

21. Febr.: Hochgradige Apathie, Pulsspannung herabgesetzt. 150. Temp. 37,2°. Die Beläge haben an Ausdehnung zugenommen, sind stellenweise stark schmierig zerfallen.

Exitus 22. Febr.

Im nativen Präparat sind neben Diphtheriebacillen und Kokken reichlichst Vincentsche spindelförmige Bacillen mit Spirochäten und schlanke, spitze, kristallnadelähnliche Bacillen vorhanden. An den schmierig ulcerösen Stellen sind oft nur Vincentsche grampositive Bacillen und gramnegative Spirochäten zu sehen, so daß an diesen Stellen der Befund ganz analog ist dem der Angina ulcerosa.

Im Nasenausfluß nur Diphtheriebacillen.

In den aëroben Kulturen reichlichst Diphtheriebacillen gewachsen.

Mittels der anaëroben Züchtung war es mir in diesem Falle nicht gelungen, Reinkultur des dünnen, spitzen Bacillus zu erhalten, doch fand ich ihn auch hier in typischer Form in Kolonieen, die nebstdem einen kleinen gramnegativen Coccus enthielten, der sich mit dem Staphylococcus parvulus (Veillon-Zuber) identifizieren ließ.

Kolonieen von dem Bacillus fusiformis Vincent habe ich nicht auffinden können.

Zur histologischen Untersuchung wurden Tonsillenstückchen genommen. Die obersten Schichten der Schnittpräparate (nach Hämalaun-Eosin gefärbt) bestehen aus einem kernlosen Gewebe, das in seiner Hauptmasse aus einem verschieden groben, homogenen Balkenwerk zusammengesetzt ist, in dessen Maschen verschieden reichliche rote Blutkörperchen, sowie ein- und mehrkernige Rundzellen und ihre Reste liegen. Diese Veränderungen reichen in verschiedener Ausdehnung in die Tiefe. Gegen das gesunde Gewebe grenzen sich die diphtheritisch veränderten Partieen mehr oder weniger scharf ab; vielfach sind gerade hier größere und kleinere Blutungsherde mit bräunlichkernigem Pigment zu sehen.

An diesen Grenzpartieen sieht man auch kleinere Gefäße, die in ihren Wandungen kernlos und zu einer hyalin aussehenden, blaß-rötlich verfärbten Masse verquollen erscheinen.

In den nach Gram-Weigert gefärbten Schnittpräparaten sieht man vorwiegend oberflächliche reichliche Bakterienmassen, aus Kokken und größeren Bacillen bestehend. Die letzteren verlaufen gerade oder leicht gebogen mit deutlich zugespitzten Enden, sind oft in Büscheln angeordnet, liegen unmittelbar unter der oberflächlichen Kokkenschicht in breiten Zügen, gleichsam senkrecht in das Gewebe eindringend.

Das Mengenverhältnis dieser beiden Bakterienformen ist ein variables. An manchen Stellen erscheinen die Bacillen fast in Reinkultur, an anderen wieder sieht man zwischen den Bacillen längere, etwas dickere, oft zu gegliederten Fäden angeordnete, ziemlich schwach gefärbte Bacillen. Etwas unter der Oberfläche findet man zu Gruppen oder Nestern vereinigte Bacillen vom Typus des Diphtheriebacillus. In den Loeffler-Methylenblaupräparaten sieht man zwischen den genannten Bacillenformen und tiefer in das Gewebe eindringend sehr dünne, meist gebogene Bacillen.

Außerdem sieht man in den nach Levaditi gefärbten Schnitten in den Grenzpartieen gegen das gesunde Gewebe mehr oder minder reichlich schöne Spirochätenformen.

Ich möchte mir aus diesem vereinzelten Befunde keine besonderen verallgemeinernde Schlüsse erlauben und vielleicht ein andermal auf die Histologie der septischen Diphtherie eingehen, die eine gewisse Aehnlichkeit mit anderen ulcerösen Mundaffektionen zu haben scheint. Wir können wohl mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die in den oberflächlichen Schichten reichlich vorhandenen zugespitzten Bacillen mit dem Bacillus fusiformis Vincent identisch sein dürften, der sich ja auch im nativen Präparate in großer Menge vorfand. Ein besonders tiefes Eindringen dieses Bacillus in das Gewebe, wie es bei den ulcerösen Mundprozessen von den verschiedensten Autoren beschrieben ist, war in meinem Falle nicht zu sehen. Mein Befund ist in dieser Beziehung ganz analog mit dem von Buday bei mit gangränösem Zerfall einhergehenden Rachendiphtherieen beschriebenen. Ob die in den nach Loeffler gefärbten Schnitten sichtbaren feinen Bacillen, die auch in die tieferen Gewebsschichten eindringen, dem von mir gezüchteten Bacillus entsprechen, ist nicht mit Gewißheit zu behaupten. Auch muß

es dahingestellt bleiben, ob in den nach Weigert gefärbten Präparaten unter den blau gefärbten Bacillen sich nicht auch solche der von mir gezüchteten Art befanden, weil es bekannt ist, daß auch gramnegative Bacillen in den Schnitten nach Gram-Weigert mehr oder weniger deutlich violett gefärbt bleiben.

Abweichend von den Angaben Budays, der in keinem seiner Diphtheriefälle Spirochäten finden konnte, konnte ich in meinem Falle ein ziemlich tiefes Vordringen derselben gegen die Grenzpartie des gesunden Gewebes beobachten. Bezüglich dieses Befundes hätte mein Fall eine gewisse Aehnlichkeit mit den gangränösen Mundaffektionen, bei welchen Ellermann, Buday, Feldmann u. a. ein besonders tiefes Eindringen der Spirochäten fanden, das sich oftmals bis in das gesunde Gewebe hinein erstreckte.

Bei meinen weiteren Züchtungsversuchen ist es mir noch öfters gelungen, diesen Bacillus, wenn auch vermengt mit Kokken, bei den verschiedenartigsten Diphtherieformen, septischen sowohl als auch gutartigen, zu kultivieren. Von besonderem Interesse scheint es mir aber zu sein, daß ich in einem Falle einen Bacillus reinzüchten konnte, der morphologisch mit meinem bisher gefundenen Bacillus übereinstimmt, kulturell aber von ihm in einigen Punkten abweicht.

Dies war bei folgendem Kranken der Fall.

W. M., 8 Jahre alt. Prot. 514/06; aufgenommen 1. Juni, entlassen 24. Juni.

Klinische Diagnose: Diphtheria faucium septica.

Status praesens: Allgemeinbefinden mäßig gut, Gesichtsausdruck leidend, Augen haloniert.

Mund- und Rachenbefund: Wangenschleimhaut gerötet, Zunge wenig belegt. Der weiche Gaumen bis an die Grenze vom harten Gaumen mit einem dicken, fibrinösen, grauweißlichen, stellenweise gelblichen Belag bedeckt, der in gleicher Weise die mediale Tonsillenfläche beiderseits überzieht. Die Uvula ist frei vom Belag. An der hinteren Rachenwand sind vereinzelte linsengroße, von einem roten Hof umgebene Beläge. Starke Schwellung der Halsdrüsen; Oedem der Haut.

Geringer Foetor ex ore. Puls kräftig, 114. Temp. 37,3. Resp. 30.

Im Urin Spuren von Eiweiß.

Injektion von 3000 A.-E.

Innerhalb von 5 Tagen verschwinden die Beläge vollständig. Vom 4. Tage an Bradykardie und Arhythmie, die längere Zeit anhält. 10 Tage nach Beginn der Erkrankung stellt sich eine Gaumensegelparese ein, die nach ca. 1 Woche wieder geschwunden ist.

Die mikroskopische Untersuchung der Membran ergab ein ziemlich reichliches Fibrinnetz, reichliche grampositive (Diphtherie-) Stäbchen, reichliche Kokken in verschiedener Gruppierung und verhältnismäßig spärliche gramnegative, spitze, schlanke Stäbchen.

Auf Loeffler-Serum angelegte Kulturen ergaben nur Diphtheriebacillen. Auf Agarstrichplatten waren reichlichst Streptokokken gewachsen. In den wie bei den früheren Fällen angelegten Serumagarschüttelkulturen war es in einzelnen Röhrchen nach 3 Tagen zum Wachstum von isolierten, grauen, rundlichen und länglichen Kolonieen gekommen, die zahlreiche gramnegative, leicht zugespitzte, unbewegliche Stäbchen und grampositive Kokken enthielten. Die grampositiven Kokken ließen sich aërob reinzüchten und erwiesen sich als Streptokokken. Durch Anlegung neuer, weiterer Verdünnungen gelang es mir bereits in der 3. Generation, eine Reinkultur des in der Mischkolonie enthaltenen Bacillus zu erhalten.

Die Kolonieen wachsen nur streng anaërob bei Brutofentemperatur; in den festen Nährböden beginnt das Wachstum erst 1—2 cm unter der

Oberfläche. Das Verhalten des Bacillus auf den verschiedenen Nährböden ist folgendes.

In Serumagar (Stich- und Schüttelkulturen) bildet er stark zerfranste Kolonieen, die nur in ihrem zentralen Teile eine opake, gelblichgrau verfärbte Scheibe bilden.

Bei den verschiedenen Weiterzüchtungen war sein Verhalten in Serumagar nicht immer dasselbe. Bei Zusatz von wenig Ascites und raschem Erstarren des Nährbodens bildet der Bacillus auch scheibenförmige und bröcklige Kolonieen, deren Rand oft zahnradförmig mit kurzen Fortsätzen besetzt ist; die Verschiedenheit des Wachstums hängt sicher von der verschiedenen Konsistenz des Nährbodens ab.

In Agar ohne Serumzusatz erfolgt ein gleiches, wenn auch weniger üppiges Wachstum.

In Zuckeragar gedeiht der Bacillus nur langsam und bildet hier kleine, punktförmige, nur nach längerem Wachstum auch scheibenförmige Kolonieen.

Auch auf Serumagarstrichplatten konnte dieser Bacillus nach der Methode von Ghon und Sachs zum Wachstum gebracht werden. Nach 4-tägigem Aufenthalte im Brutofen waren auf den Serumagarplatten einzelne, deutlich isolierte Kolonieen verschiedener Größe gewachsen; die größten haben einen Durchmesser bis 3 mm.

Die Kolonieen sind von grauer, glänzender Farbe, der Rand leicht gebuchtet, der zentrale Anteil kegelförmig erhaben, von glasiger Beschaffenheit und graugelblicher Farbe.

Bei schwacher Vergrößerung (Zs. A, Ok. 3) zeigen die Kolonieen ein bräunliches Kolorit, an der Peripherie lichter, im Zentrum dunkelbraun. Die periphere Partie weist eine deutliche faserige Struktur auf, der Rand ist oft deutlich ausgefranst, in dem mittleren Teile liegen der Kolonie kleine und größere bräunliche Schollen auf.

In flüssigen Nährmedien, Serumbouillon, Bouillon und Zuckerbouillon, kommt der Bacillus gut zum Wachstum; am besten in Serumbouillon, schlecht und weniger üppig in Zuckerbouillon. Der Bacillus bildet in diesen Nährmedien einen häutigen Bodensatz und über diesem eine ganz leichte, flockige Trübung, während sonst die Flüssigkeit ganz klar bleibt.

Die Geruchsentwickelung in den verschiedenen Nährmedien ist weniger intensiv wie bei dem früher beschriebenen Bacillus; am stärksten noch in Serumbouillon und in gewöhnlicher Bouillon.

In Gelatine erfolgt kein Wachstum. In Gelatine bei Brutofentemperatur kommt es nach einigen Tagen zur Bildung eines flockigen Niederschlages; beim Einstellen in kaltes Wasser rasches Erstarren des Nährbodens. Seine Lebensdauer im Brutofen beträgt 3--4 Wochen. Auch bei Zimmertemperatur (nachdem er die ersten 2 Tage im Brutofen zum Wachstum gebracht wurde) hält er sich nicht länger.

Die nach Gram gefärbten Präparate von den verschiedenen Nährböden ergeben ein gleichartiges Resultat. Der Bacillus ist ein gramnegatives, verschieden langes, an den Enden zugespitztes Stäbchen. Er ist häufig als Diplobacillus, bisweilen auch in Form von gegliederten Fäden aneinandergelagert. Er verläuft gerade oder leicht gebogen; nur die langen Fäden, zu denen er bisweilen auswächst, zeigen auch schlingenartige Formen. Degenerationsformen sind besonders schön in Zuckeragar anzutreffen.

Der Bacillus ist dann oftmals gequollen, mitunter auch keulenförmig,

nicht unterscheidet, kulturell aber deutliche Differenzen aufweist.

Literatur.

Abel, Zur Bakteriologie der Stomatitis und Angina ulcerosa. (Centralbl. f. Bakt. etc Bd. XXIV. 1898.)

Barbier, Arch. de méd. expérim. et d'anat. path. 1891. p. 361.

Baron, Zur Kenntnis der Angina exsudativa ulcerosa. (Arch. f. Kinderheilkunde. Bd. XXXV. 1903.)

Beitzke, Ueber die fusiformen Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XXXV. No. 1 u. 2. Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 1036.)

Bernheim, Ueber die Pathogenese und Serumtherapie der schweren Rachendiphtherie 1898.

Bernheim u. Pospishill, Zur Klinik der Bakteriologie der Stomatitis ulcerosa. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XLVI. 1898.)

Buday, Zur Pathogenese der gangränösen Mund- und Rachenentzündungen. (Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. Bd. XXXVIII. 1905.)

Dungern, Die Bedeutung der Mischinfektion bei Diphtherie. (Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. Bd. XXI. 1897.)

Ellermann, Einige Fälle von bakterieller Nekrose beim Menschen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905.)

Emmerich, Bemerkungen zur Heilserumbehandlung der Diphtherie in München. (Münch. med. Wochenschr. 1894. p. 888.)

Escherich, Diphtherie, Krup, Serumtherapie. Wien 1905.

— —, Zur Pathogenese der Diphtherie. (Wien. klin. Wochenschr. 1894. p. 397.)

Feldmann, Beiträge zu den durch Bacillus fusiformis und Spirillum dentium hervorgerufenen Infektionen, mit besonderer Berücksichtigung der Eiterungen. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. p. 695.)

Frühwald, Ueber Stomatitis ulcerosa. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XXIX. 1889.)

Gallois et Courcoux, Presence du bacille de Loeffler dans certains cas d'angine ulcereuse de Vincent. (Soc. méd. des hôp. 1903. p. 591.)

Genersich, Bakteriologische Untersuchungen über die sogenannte septische Diphtherie. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XXXVIII. 1894.)

Ghon u. Sachs, Ueber die anaërobe Züchtung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902.)

Graupner, Ueber Angina diphtheroides. (Münch. med. Wochenschr. 1902. p. 727.)

Gross, Ueber Angina ulcero-membranacea. (Dtschs Arch. f. klin. Med. Bd. LXXIX. 1904.)

Heubner, Lehrb. d. Kinderheilk. Bd. I. 1903. p. 465.

Kühnau, Mischinfektion mit Proteus bei Diphtherie der Halsorgane. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXXI. 1897.)

Leiner, Gesellsch. f. innere Med. u. Kinderheilk. 1905. 2. Nov.

Lewkowicz, Ueber die Reinkulturen des fusiformen Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLI. 1906. Bull. de l'Inst. Pasteur. 1903. p. 825.)

Löblowitz, Ueber Stomatitis ulcerosa. (Wien. med. Wochenschr. 1902. No. 48—52.)

Marfan, Leçons cliniques sur la diphtérie. Paris (Masson et Cie.) 1905.

Matzenauer, Noma und Nasocomialgangrän. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LX. 1902.)

Miller, Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig 1892.

Mühlens, Zur Züchtung von Zahnspirochäten und fusiformen Bacillen auf künstlichen (festen) Nährböden. (Dtsche med. Wochenschr. 1906. p. 797.)

Müller u. Scherber, Zur Aetiologie und Klinik der Balanitis erosiva circinata und Balanitis gangraenosa. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXXIV. 1905.)

Niclot et Marotte, L'angine et la stomatite à bacilles fusiformes de Vincent et à spirilles. (Revue de méd. 1901. p. 317.)

Passini, Die bakteriellen Hemmungsstoffe Conradis und ihr Einfluß auf das Wachstum der Anaërobier des Darmes. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 21.)

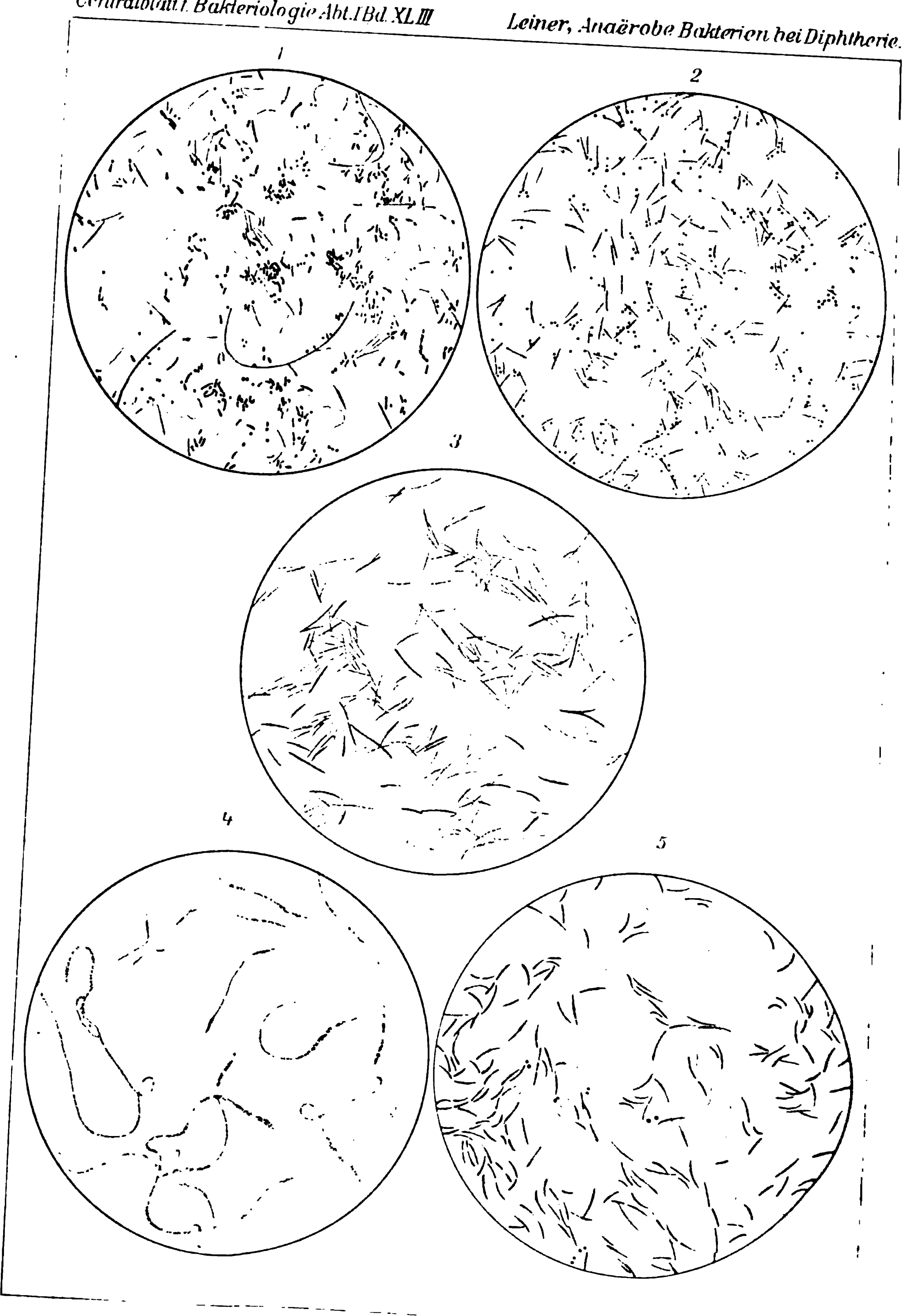
— —, Ueber granulosebildende Darmbakterien. (Ibid. 1902. No. 1.)

Plaut, Studien zur bakteriellen Diagnostik der Diphtherie und der Anginen. (Dtsche med. Wochenschr. 1894. p. 920.)

Rodella, Ueber anaërobe Mundbakterien und ihre Bedeutung. (Arch. f. Hyg. Bd. LIII. 1905.)

Rist, Études bactériologiques sur les infections d'origine otique. Paris (Carré et Naud) 1898.





Verlag v. Gustav Fischer, Jena

Rona, Zur Aetiologie und Pathogenese der Plaut-Vincentschen Angina, der Stomakake, der Stomatitis gangraenosa idiopathica, beziehungsweise der Noma, der Stomatitis mercurialis gangraenosa und der Lungengangrän. (Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LXXIV. 1905.)
Roux et Yersin, Contribution à l'étude de la diphtérie. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IV. 1890.)
Salomon, Weitere Mitteilungen über Spirochätenbacillenangina. (Dtsche med. Wochenschr. 1901. p. 275.)
Seitz, Bacillus hastilis. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. p. 47.)
Silberschmidt, Ueber den Befund von spießförmigen Bacillen und von Spirillen in einem Oberschenkelabsceß. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901.)
Stoecklin, Recherches sur la présence et la rôle des bacilles fusiformes de Vincent dans les angines banales et spécifiques. (Arch. de méd. expérim. 1900. p. 269.)
Uffenheimer, Beiträge zur Klinik und Bakteriologie der Angina ulcerosa-membranacea. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 28.)
Veillon et Zuber, Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies. (Arch. de méd. expérim. 1898. p. 517.)
Vincent, Sur une forme particulière d'angine diphtéroide (Angine à bacilles fusiformes). (Soc. méd. des hôp. 1898. p. 244.)
— —, Recherches bactériologiques sur l'angine à bacilles fusiformes. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 609.)
— —, Sur la culture et l'inoculation du bacille fusiforme. (Soc. de biol. T. I. 1901. p. 339.)
— —, Symptomatologie et diagnostic de l'angine à spirilles et bacilles fusiformes. (Lancet. 1905. Vol. I$_2$. p. 1260.)

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Gram-Präparat von dem Belage einer septischen Diphtherie. Grampositive Diphtheriestäbchen, vereinzelte typische fusiforme Bacillen, Leptothrix-Fäden und Kokken.

Gramnegative, ziemlich reichliche, schlanke, spitze Stäbchen, oft zu Büscheln gruppiert, Spirochäten und Kokken.

Fig. 2. Gram-Präparat von einer Mischkolonie, schlanke, spitze Stäbchen und Kokken enthaltend.

Fig. 3. Gram-Präparat einer Reinkultur der schlanken, spitzen Stäbchen.

Fig. 4. Degenerationsformen des Bacillus.

Fig. 5. Gram-Präparat von dem Belage einer Angina ulcerosa (Vincent), fast nur den Bacillus fusiformis und Spirochäten enthaltend.

Ueber die Wirkung der Influenza auf den Verlauf verschiedener Infektionskrankheiten.

[Institut für klinische Medizin der kgl. Universität zu Genua (Direktor: Prof. E. Maragliano).
Institut für Infektionskrankheiten (Vorstand des Laboratoriums: Prof. A. Bruschettini).]

Experimentelle Untersuchungen.

Von Dr. **Spiro Livierato**, Assistenten an der Klinik.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Ein Gesetz der Physiopathologie, das nunmehr sicher festgelegt ist, besagt, daß die pathogene Wirkung eines Bakteriums von toxischen Substanzen, die von ihm selbst bereitet sind, abhängt, und daß eine Infektionskrankheit nur eine Intoxikation ist, welche durch die giftigen

Substanzen hervorgerufen ist, die von den im Organismus lebenden Bakterien produziert worden sind.

Dieses Gesetz gilt ebenso wie für die anderen Infektionskrankheiten auch für die Influenza, wenn auch einige Beobachter diese Wirkungsweise des spezifischen Bacillus dieser Krankheit in Zweifel gezogen haben! Diese Art und Weise der Wirkung des Influenzabacillus, die schon von Wassermann, Pfeiffer, Delius, Kolle und Meunier vermutet worden war, erhielt ihre experimentelle Bestätigung erst durch die Untersuchungen von Cantani (jun.), der dabei folgendermaßen vorging. Nachdem er Kaninchen Influenzabacillenkulturen subdural injiziert hatte, beobachtete er, daß die Tiere rasch starben, ohne daß sich die Keime längs des Gehirnes und Rückenmarkes vermehrt hatten. Aus diesem Umstande schloß er, daß nicht die Bakterien an und für sich die Krankheitserscheinungen und den Tod der Tiere verursacht hatten, sondern vielmehr die von ihnen ausgeschiedenen Stoffe, ihre Toxine. Um zu untersuchen, wieviel Wahres an dieser Schlußfolgerung sei, sterilisierte er die Kulturen bei 60° und wiederholte mittels derselben Technik die subduralen Injektionen bei den Kaninchen. Die Tiere starben ebenfalls rasch, und zwar unter denselben Krankheitserscheinungen, wie diejenigen, denen die lebenden Kulturen eingespritzt worden waren. Das Experiment war also sehr beweisend und der Beobachter schloß mit Recht daraus, daß es in diesen Fällen das Toxin des Influenzabacillus war, welches die Wirkung ausübte, und daß man demzufolge sowohl die Krankheitserscheinungen als auch den Tod der Tiere der Wirkung der toxischen Substanzen zuschreiben müsse, die von dem spezifischen Bakterium ausgeschieden seien. Auf Grund dieses Versuches besonders können wir heute behaupten, daß der spezifische Bacillus der Influenza sich zunächst in einer Schleimhaut des tierischen Organismus, und zwar gewöhnlich in der der oberen Luftwege ansiedelt, dann von dort aus seine giftigen Produkte in den Kreislauf gelangen läßt und so also zunächst einen lokalen entzündlichen Herd und dann eine Toxämie mit allgemeinen Symptomen bildet. Die lokalen und allgemeinen Erscheinungen haben die Eigentümlichkeit, daß hinsichtlich ihrer Intensität keine direkten Beziehungen zwischen ihnen bestehen. Denn entzündliche Herde, die so eng umgrenzt und so wenig intensiv sind, daß sie kaum lokalisierbare Symptome machen und auf diese Weise unbeobachtet oder latent verlaufen, können von Erscheinungen intensiver Toxämie begleitet werden, während andererseits bei großen lokalen Herden nur Erscheinungen einer leichten Toxämie auftreten können.

Die Frage hinsichtlich der Beziehungen zwischen den durch den Influenzabacillus und den durch andere Mikroorganismen verursachten Infektionen, die wir unter dem allgemeinen Ausdrucke „sekundäre Infektionen“ in Bezug zum Influenzabacillus zusammenfassen können, begann man besonders vom klinischen Standpunkte aus in der Zeit der Influenzapandemie des Jahres 1899—1900 zu studieren. Während dieser Pandemie trat eine Erscheinung auf, welche die Kliniker und Praktiker aller Länder, in denen die Influenza herrschte, sehr in Erstaunen setzte, und zwar war dies nicht die Anzahl der Influenzakranken, die als Komplikation eine katarrhalische Pneumonie bekamen, sondern die große Zahl der krupösen Pneumonieen, die sich zeigten, eine Zahl, die in früheren Zeiten, wo es noch keine Influenzaepidemie gab, niemals erreicht worden war.

Diese Beobachtung ließ die Frage entstehen, die dann oft erörtert wurde, ob diese Pneumonieformen als unabhängig und Krankheiten für sich aufzufassen wären, oder ob sie ihren Ursprung der großen Influenzaepidemie zu verdanken hätten. Den Gedanken, daß beide Infektionen miteinander in Beziehung stehen könnten, ließ man anfangs ganz außer acht und sagte, daß dieses Zusammentreffen nur ein Zufall sein müßte. Hierüber kann man sich nicht wundern, denn, da diese Annahme sehr einfach ist, so ist sie natürlich den damaligen Beobachtern zuerst in den Sinn gekommen. Aber diese Annahme muß man ganz und gar fallen lassen, wenn man die ständige Wiederholung dieser Kombination sieht; denn auch von den neuen Autoren wird diese Tatsache immer öfter konstatiert, da sie sich, wenn auch in geringerem Grade, bei jeder folgenden Epidemie wiederholte. Dann kam die Vorstellung auf, daß es sich um zwei parallele Prozesse handele; man stützte sich hierbei auf das nicht seltene Beispiel vom gleichzeitigen Vorkommen mehrerer Infektionskrankheiten. Allmählich kam man zu der Annahme, daß die krupöse Pneumonie sich auf einem von der Influenza vorbereiteten Boden entwickelt hätte. Diese Hypothese steht im Einklange mit den Lehren der heutigen allgemeinen Pathologie der Infektionskrankheiten; denn sie sagt uns, daß es eine Eigenschaft gewisser Bakterien, und zwar besonders der pyogenen und der gewöhnlichen Streptokokken und Staphylokokken und auch des Fraenkelschen Diplococcus sei, sich leichter auf Geweben zu entwickeln, welche schon durch die Wirkung einer anderen Infektion, d. h. durch eine durch andere Bakterien bedingte Toxämie vorbereitet sind. Wir finden dies oft bei Masern, Scharlach, Typhus und im allgemeinen bei allen Infektionskrankheiten bestätigt.

Ein anderer Umstand, der die klinische Vorstellung von den Beziehungen zwischen der durch den Influenzabacillus bedingten Infektion und den durch andere Mikroorganismen verursachten Infektionen noch mehr stützt, ist die Beobachtung, daß bei verschiedenen gewöhnlichen Krankheiten eine Verschlimmerung der Symptome eintritt, wenn eine Influenza hinzukommt. Als ein Beispiel dieser Beobachtung werde ich der Kürze halber von den verschiedenen Krankheiten nur die Lungentuberkulose anführen. Was diese Krankheit anbetrifft, so kann man zwar sicherlich nicht annehmen, daß die Influenza die Ursache einer Lungentuberkulose werden kann, wohl aber kann man beobachten, daß sie sehr leicht Tuberkulöse befällt, bei ihnen schwerer verläuft, und daß die Sterblichkeitsziffer der Tuberkulösen in der Zeit einer Influenza erhöht ist. Außerdem ist durch die Beobachtungen einer großen Zahl von Autoren festgestellt worden, daß durch die Influenza der Verlauf der Lungentuberkulose beschleunigt werden kann und Tuberkuloseformen mit langsamer Entwickelung mit einem Male einen galoppierenden Verlauf nehmen können, und ferner, daß bei Tuberkulosen im Latenzstadium eine Influenzainfektion ein Aufbrechen der bis dahin verborgenen Herde verursachen kann.

Auf Grund dieser vielfachen an Kranken gemachten Beobachtungen kam man allmählich zu der klinischen Vorstellung, daß die Influenza mittels der Veränderungen, die sie im Organismus hervorriefe, dort einen Boden schaffte, der für die Entwickelung anderer pathogener Mikroorganismen günstig wäre.

Wenn auch diese Vorstellung von der Wirkung der Influenza bei anderen Infektionen die größte Beachtung verdiente, weil sie auf eingehenden und sorgfältigen klinischen Beobachtungen beruht, so konnte

sie doch nicht von der Kritik verschont bleiben, da sie noch nicht in direkter Weise bewiesen worden war.

Diese Betrachtungen erregten meine Aufmerksamkeit und in der Meinung, daß der direkte Beweis nur auf experimentellem Wege erbracht werden könne, versuchte ich mit Hilfe des Experimentes festzustellen, wieviel Wahres an der klinischen Vorstellung wäre.

Da ich mich durch meiner Ansicht nach erschöpfende bibliographische Studien überzeugt habe, daß auf diesem Gebiete und nach dieser Gedankenrichtung hin bisher noch keine Versuche angestellt worden sind, so habe ich systematisch eine Reihe von experimentellen Untersuchungen vorgenommen, die ich im folgenden auseinandersetzen werde.

Der allgemeine Zweck der Untersuchungen war folgender. Ausgehend von dem Gedanken, daß die Influenza mittels der von ihrem spezifischen Bacillus gebildeten Toxine wirkt, wollte ich sehen, wie sich gegenüber Kontrolltieren Tiere, denen Kulturen verschiedener pathogener Mikroorganismen — des Fraenkelschen Pneumococcus, des Friedländerschen Pneumobacillus, des Eberthschen und des Kochschen Bacillus — injiziert waren, verhielten, wenn sie mit Influenza infiziert wurden, und zwar in der Weise, daß man ihnen zusammen mit der Kultur des einzelnen pathogenen Mikroorganismus die künstlich präparierten Toxine des Influenzabacillus injizierte.

Um die Frage, die ich mir gestellt habe, genauer studieren zu können, habe ich Untersuchungen nach folgenden Richtungen hin angestellt:

1) Haben die Toxine des Influenzabacillus die Fähigkeit, die toxisch-infektiöse Wirkung eines Mikroorganismus zu erhöhen, der zugleich mit ihnen Tieren injiziert ist, für welche er wenig pathogen ist — z. B. der Friedländersche Pneumobacillus für das Kaninchen?

2) Sind die Toxine des Influenzabacillus im stande, die Entwickelung eines Bacillus und das Auftreten der für ihn spezifischen Infektion zu erleichtern, nachdem sie zusammen mit ihm Tieren injiziert sind, die ihm gegenüber refraktär oder nur wenig empfänglich sind — z. B. das Meerschweinchen für den Fraenkelschen Pneumococcus, das Kaninchen für den Eberthschen Bacillus?

3) Besitzen die Toxine des Influenzabacillus die Fähigkeit, den Verlauf einer künstlichen Infektion abzukürzen, wenn man sie Tieren injiziert, die schon vorher mit Kulturen von Mikroorganismen infiziert worden sind, welche die Eigenschaft haben, bei den Tieren eine Infektion mit langsamem Verlaufe hervorzurufen — z. B. der Tuberkelbacillus beim Hunde und beim Kaninchen?

Die Toxine der Influenzabacillen, die von Patienten herrührten, wurden nach dem gewöhnlichen Verfahren hergestellt, nachdem die Bacillen durch Aether getötet worden waren.

Die Tiere, an denen die Experimente vorgenommen wurden, waren Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde, und zwar hatten die einzelnen Tiergruppen das gleiche Körpergewicht. Die Influenzabacillentoxine wurden subkutan, die Kulturen der einzelnen Mikroorganismen gewöhnlich subkutan, manchmal aber auch, wie wir im folgenden sehen werden, sowohl subkutan wie intraperitoneal injiziert.

Ich halte es nicht für notwendig, die verschiedenen Experimente und die bei jedem erhaltenen Resultate einzeln aufzuführen. Die Arbeit würde dann zu lang werden, ohne dadurch an Klarheit zu gewinnen. Ich will deshalb unter den verschiedenen Untersuchungen eine Auswahl

treffen und immer nur einen einzigen Versuch für jeden einzelnen der Mikroorganismen wiedergeben, mit welchen zusammen mit den Influenzabacillentoxinen experimentiert wurde. Um einen klareren Ueberblick über die erhaltenen Resultate zu gewähren, werde ich die Daten eines jeden Experimentes in den beigefügten Tabellen angeben.

I. Experimente an Kaninchen mit dem Pneumobacillus Friedländer.

Es werden 8 Kaninchen genommen und in 2 Gruppen geteilt, von denen jede aus 4 Tieren besteht. 4 dienen zur Kontrolle und werden daher nur mit einer Kultur des Friedländerschen Pneumobacillus geimpft; den 4 anderen werden zugleich mit der Kultur des Friedländerschen Pneumobacillus die Toxine des Influenzabacillus injiziert, wie aus der untenstehenden Tabelle hervorgeht.

Was die Zeit anbetrifft, die zwischen der Inokulation der Kulturen der einzelnen Mikroorganismen und der Toxine des Influenzabacillus lag, so will ich gleich sagen, daß ich sowohl in diesem wie auch in den folgenden Experimenten vollkommen analoge Resultate erhalten habe, und zwar spielte es keine Rolle, ob die Injektion von Kultur und Toxin gleichzeitig oder in Zwischenräumen von 1—6 Stunden erfolgt war, und ob man die Kultur vor dem Toxin injizierte oder auch in umgekehrtem Sinne verfuhr.

Tabelle I.

Tier	Daten	Kultur des Pneumobacillus Friedländer	Toxin des Influenzabacillus	Beobachtungen
Kaninchen 1	24. I. 1906	Subkut. Injekt. von 5 ccm einer 24 St. alten Kultur des Pneumobac. Friedländer	—	Kaninchen 1 lebt nach 23 Tagen.
Kaninchen 2	24. I. 1906	Subkut. Injekt. von 5 ccm einer 24 St. alten Kultur des Pneumobac. Friedländer	Subkut. Injekt. von 10 ccm Toxin 10 Tge alter Influenzabac.	
Kaninchen 2	26. I. 1906	—	2. subkut. Injekt. von 10 ccm Influenzabacillentoxin	
Kaninchen 2	29. I. 1906	—	—	Kaninchen 2 stirbt in der Nacht, d. h. 5 Tage nach der Inokulation. Autopsie. Die Präparate und Kulturen des Herzblutes geben ein positives Resultat

II. Experimente an Meerschweinchen mit dem Pneumococcus Fraenkel.

Zu diesem Versuche werden 8 Meerschweinchen genommen und in 2 Gruppen eingeteilt. Die Hälfte von ihnen dient zur Kontrolle; diese werden deshalb nur mit den Kulturen des Fraenkelschen Pneumococcus geimpft, den anderen werden zusammen mit den Pneumokokkenkulturen die Influenzabacillentoxine in folgender Weise injiziert.

Tabelle II.

Tier	Daten	Kultur des Pneumococcus Fraenkel	Toxin des Influenzabacillus	Beobachtungen
Meerschweinchen 1	15. II. 1906	Subkut. Injekt. von 2 ccm einer 24 St. alten Bouillonkult. des Pneumococcus Fraenkel	—	Meerschweinchen 1 lebt nach 39 Tagen
Meerschweinchen 2	15. II. 1906	Subkut. Injekt. von 2 ccm einer 24 St. alten Bouillonkult. des Pneumococcus Fraenkel	Subkut. Injekt. von 10 ccm Toxin 10 Tge alter Influenzabac.	
Meerschweinchen 2	17. II. 1906	—	—	Meerschweinchen 2 stirbt in der Nacht, d. h. 2 Tage nach der Injektion. Autopsie. Präparate u. Kulturen ergeben ein positives Resultat. Der Pneumococcus Fraenkel findet sich im Blute und in der Milz

III. Experimente an Kaninchen mit dem Eberthschen Bacillus (auf subkutanem Wege).

Es werden 8 Kaninchen genommen und in 2 Gruppen eingeteilt. 4 Tiere dienen zur Kontrolle und werden subkutan nur mit den Kulturen

Tabelle III.

Tier	Daten	Kultur des Eberthschen Bacillus	Toxin des Influenzabacillus	Beobachtungen
Kaninchen 1	20. III. 1906	Subkut. Injekt. von 10 ccm einer 24 St. alten Bouillonkult. des Eberthschen Bacillus	—	Kaninchen 1 lebt nach 36 Tagen
Kaninchen 2	20. III. 1906	Subkut. Injekt. von 10 ccm einer 24 St. alten Bouillonkult. des Eberthschen Bacillus	Subkut. Injekt. von 10 ccm Toxin 10 Tge alter Influenzabac.	
Kaninchen 2	25. III. 1906	—	2. subkut. Injekt. von 10 ccm Influenzabacillentoxin	
Kaninchen 2	30. III. 1906	—	3. subkut. Injekt. von 10 ccm Influenzabacillentoxin	
Kaninchen 2	3. IV. 1906	—	—	Kaninchen 2 stirbt am Morgen, d. h. 14 Tage nach der Inokulation. Autopsie. Präparate u. Kulturen ergeben ein positives Resultat

des Eberthschen Bacillus geimpft, den 4 anderen werden zusammen mit den Kulturen des Eberthschen Bacillus die Toxine des Influenzabacillus injiziert, und zwar in der auf Tabelle III angegebenen Weise.

IV. Experimente an Meerschweinchen mit dem Kochschen Bacillus (auf intraperitonealem Wege).

Auch zu diesem Versuche werden 8 Meerschweinchen genommen und in 2 Gruppen zu je 4 Tieren geteilt. Die Hälfte der Tiere dient wie gewöhnlich zur Kontrolle und wird intraperitoneal nur mit einer Emulsion lebender und virulenter Kochscher Bacillen in steriler physiologischer Kochsalzlösung geimpft (die Bacillen stammen von einer jungen Kultur auf Glycerinagar). Die anderen 4 Tiere erhalten nach der Inokulation der Emulsion aus den Kochschen Bacillen eine Injektion von Influenzabacillentoxin, und zwar in der auf der folgenden Tabelle angegebenen Weise.

Tabelle IV.

Tier	Daten	Kultur des Kochschen Bacillus	Toxin des Influenzabacillus	Beobachtungen
Meerschweinchen 1	5. III. 1906	Intraperiton. Injekt. von $2\frac{1}{2}$ ccm einer Emulsion lebender u. virulenter Kochscher Bacillen	—	Meerschweinchen 1 stirbt nach 56 Tagen
Meerschweinchen 2	5. III. 1906	Intraperiton. Injekt. von $2\frac{1}{2}$ ccm einer Emulsion lebender u. virulenter Kochscher Bacillen	—	
Meerschweinchen 2	12. III. 1906	—	Subkut. Injekt. von 10 ccm Toxin 10 Tge alter Influenzabac.	
Meerschweinchen 2	12. III. 1906	—	—	Meerschweinchen 2 stirbt in der Nacht, d. h. 11 Tage nach der Inokulation. Autopsie. Kochsche Bacillen finden sich in den Mesenterialdrüsen, den Nieren u. d. Leber

V. Experimente an Meerschweinchen mit dem Kochschen Bacillus (auf subkutanem Wege).

Zu diesem Versuche werden auch 8 Tiere genommen und in 2 Gruppen eingeteilt. Die 4 ersten Tiere dienen zur Kontrolle und werden intraperitoneal nur mit einer Emulsion lebender und virulenter Kochscher Bacillen in steriler physiologischer Kochsalzlösung geimpft (die Bacillen stammen von einer jungen Kultur auf Glycerinagar). Die anderen 4 Tiere erhalten nach der Inokulation der Tuberkelbacillenemulsion wiederholt Injektionen von Influenzabacillentoxin, und zwar in der folgenden Weise.

Tabelle V.

Tier	Daten	Kultur des Kochschen Bacillus	Toxin des Influenzabacillus	Beobachtungen
Meerschweinchen 1	23. III. 1906	Subkut. Injekt. von 2 1/2 ccm einer Emulsion lebender u. virulenter Kochscher Bacillen	—	Meerschweinchen 1 stirbt nach 64 Tagen
Meerschweinchen 2	23. III. 1906	Subkut. Injekt. von 2 1/2 ccm einer Emulsion lebender u. virulenter Kochscher Bacillen	—	
Meerschweinchen 2	27. III. 1906	—	Subkut. Injekt. von 10 ccm Toxin 10 Tge alter Influenzabac.	
Meerschweinchen 2	2. IV. 1906	—	2. subkut. Injekt. von 10 ccm Toxin 10 Tage alter Influenzabacillen	
Meerschweinchen 2	11. IV. 1906	—	—	Meerschweinchen 2 stirbt in der Nacht, d. h. 19 Tage nach der Inokulation. Autopsie. Kochsche Bacillen finden sich in den Mesenterialdrüsen und in der Milz

VI. Experimente an Kaninchen mit dem Kochschen Bacillus.

Ebenso wie zu den oben beschriebenen Versuchen werden auch zu diesem 8 Kaninchen genommen und in 2 Gruppen geteilt. 4 von ihnen, die zur Kontrolle dienen, impft man mittels subkutaner Injektion eine Emulsion lebender und virulenter Kochscher Bacillen in steriler physiologischer Kochsalzlösung ein (die Bacillen stammen von einer jungen Kultur auf Glycerinagar). Die anderen 4 Tiere erhalten nach der Inokulation der Tuberkelbacillenemulsion Injektionen von Influenzabacillentoxin, und zwar in der auf der folgenden Tabelle (p. 139) angegebenen Weise.

So sind nun in umfassender Weise die verschiedenen Versuche wiedergegeben, die den Einfluß der Influenza auf den Verlauf der verschiedenen Infektionen zeigen sollen. Wirft man einen Blick auf die in den Tabellen verzeichneten Resultate, so wird man leicht erkennen können, wie klar und übereinstimmend sie sind, und was sie uns hinsichtlich der klinischen Vorstellung von der Influenza sagen.

Mit Hilfe dieser Experimente habe ich in klarer und deutlicher Weise folgendes zeigen können: Injiziert man Tieren gleichzeitig mit den Kulturen für sie wenig pathogener Mikroorganismen die Toxine des Influenzabacillus, so erhöhen diese Toxine die toxisch-infektiöse Wirkung dieser Mikroorganismen auf das Tier, wie man an den Kontrollversuchen sieht (Tab. I).

Injiziert man Tieren Mikroorganismenkulturen, denen gegenüber die betreffende Tierspecies refraktär oder wenig empfänglich ist, und gleich-

Tabelle VI.

Tier	Daten	Kultur des Kochschen Bacillus	Toxin des Influenzabacillus	Beobachtungen
Kaninchen 1	19. III. 1906	Subkut. Injekt. von 5 ccm einer Emulsion lebender und virulenter Kochscher Bacillen	—	
Kaninchen 2	19. III. 1906	Subkut. Injekt. von 5 ccm einer Emulsion lebender und virulenter Kochscher Bacillen	—	
Kaninchen 2	23. III. 1906	—	Subkut. Injekt. von 10 ccm Toxin 10 Tge alter Influenzabac.	
Kaninchen 2	27. III. 1906	—	2. subkut. Injekt. von 10 ccm Influenzabacillentoxin	
Kaninchen 2	13. IV. 1906	—	3. subkut. Injekt. von 10 ccm Influenzabacillentoxin	
Kaninchen 2	24. IV. 1906	—	4. subkut. Injekt. von 10 ccm Influenzabacillentoxin	
Kaninchen 2	1. V. 1906	—	5. subkut. Injekt. von 10 ccm Influenzabacillentoxin	
Kaninchen 2	13. V. 1906	—	6. subkut. Injekt. von 10 ccm Influenzabacillentoxin	Kaninchen 2 stirbt am Nachm., d. h. 55 Tage nach der Impfung. Autopsie ergibt: Peritonitis tuberculosa. Tuberkulose der Mesenterialdrüsen, der Nieren und der Milz

zeitig damit die Toxine des Influenzabacillus, so erleichtern diese Toxine die Entwickelung der betreffenden Mikroorganismen und das Auftreten der spezifischen Infektion (Tab. II und III).

Impft man Tiere mit Kulturen von Mikroorganismen, welche die Eigenschaft haben, bei ihnen eine Infektion mit langsamem Verlaufe hervorzurufen, und injiziert ihnen dann in der auf den Tabellen angegebenen Weise die Toxine des Influenzabacillus, so sind diese Toxine im stande, den Verlauf der spezifischen experimentellen Infektion abzukürzen (Tab. IV, V und VI).

Wie kann man sich nun diese besondere Wirkung der Influenzabacillentoxine erklären? Wie kann der Mechanismus sein, welcher der Wirkung der Influenza in diesen Fällen zu Grunde liegt? Die Art und Weise ihrer Wirkung ist nicht schwierig zu erklären und kann, glaube ich, in folgendem Satze ausgedrückt werden: Die Influenza schafft mittels der von ihrem spezifischen Bacillus produzierten Toxine im Organismus Bedingungen, welche die Entwickelung anderer Mikroorganismen in ihm begünstigen;

letztere erzeugen dann die verschiedenen Mischinfektionen, die man oft neben der Influenza antrifft.

Rekapituliert man nun die aus den verschiedenen Versuchen erhaltenen Resultate, so kann man hieraus, glaube ich, folgende allgemeine Schlußfolgerungen ziehen.

1) Injiziert man die Toxine des Influenzabacillus Tieren zusammen mit Mikroorganismen, die für sie wenig pathogen sind, so wird dadurch die toxisch-infektiöse Wirkung der einzelnen Mikroorganismen erhöht.

2) Injiziert man die Toxine des Influenzabacillus Tieren zusammen mit Mikroorganismen, denen gegenüber die betreffende Tierspecies refraktär oder wenig empfänglich ist, so wird dadurch die Entwickelung des einzelnen Mikroorganismus und die Erzeugung der spezifischen Infektion erleichtert.

3) Impft man den Tieren Kulturen von Mikroorganismen ein, welche die Eigenschaft haben, bei ihnen eine Infektion mit langsamem Verlaufe zu erzeugen, und injiziert man ihnen dann die Toxine des Influenzabacillus, so wird dadurch der Verlauf der experimentellen spezifischen Infektion abgekürzt.

Aus diesen experimentellen Ergebnissen kann man einen Nutzen für die menschliche Pathologie ziehen. Denn, da sie die Beziehungen zwischen der Influenza und den verschiedenen anderen Infektionen feststellen und uns die besondere Wirkung der Influenza auf die anderen Infektionen vor Augen führen, die darin besteht, daß sie deren Entwickelung begünstigt und ihre Symptome verstärkt, so werden wir darauf hingewiesen, welche Rücksicht wir vom prognostischen und welche Aufmerksamkeit wir vom therapeutischen Standpunkte dem gleichzeitigen Bestehen oder dem Auftreten der Influenza im Verlaufe der verschiedenen akuten und chronischen Infektionskrankheiten zuwenden müssen.

Bevor ich schließe, möchte ich Herrn Prof. A. Bruschettini meinen aufrichtigen Dank dafür aussprechen, daß er mir die Mittel seines Laboratoriums zur Verfügung gestellt und mir bei der Ausführung der Versuche mit seinem Rate zur Seite gestanden hat.

Bibliographie.

Charcot, Bouchard, Brissaud, Trattato di med. Vol. I. Tl. II. Turin (Unione tipograf.) 1892.

Brouardel et Gilbert, Nouveau traité de méd. et de thérapie. Vol. I. Pt. I. Paris (Baillière et fils) 1905.

Maragliano, E., Die Influenza und ihre klinischen Formen. (Cronaca della clinica med. di Genova. Jg. II. 1905. Fasc. 16.)

— —, Die Influenza vom klinischen, pathologischen und therapeutischen Standpunkte. (Gazz. degli ospedali e delle cliniche. Jg. XIX. 1898. No. 49.)

Fürbringer, Die Influenza. (Zeitgenöss. Klinik, hrsg. von v. Leyden u. Klemperer. Bd. II. No. 3—4.) Mailand (Società Ed. Libreria) 1903.

Ortner, Die Influenza seit der letzten Pandemie. (Ibid. Bd. II. 1903. Fasc. 19—20.)

Cantani, A. (jun.), Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXIII. Heft 2.

Zur Geschichte der Entdeckung des Micrococcus intracellularis meningitidis.

Von **E. Marchiafava** und **A. Celli.**

Seit Wiederausbruch der Genickstarreepidemie bereichert sich die ärztliche Literatur fast täglich durch neue Arbeiten über die Aetiologie dieser Krankheit. Es dürfte deshalb für die Leser dieser Zeitschrift nicht uninteressant sein, die erste Arbeit über diesen Gegenstand kennen zu lernen.

Wir veröffentlichten am 27. Januar 1884 in No. 8 der verbreiteten Gazzetta degli Ospedali eine Arbeit über die Mikrokokken der epidemischen Genickstarre, die wir folgendermaßen beschrieben:

Deutsche Uebersetzung.

„In zwei Fällen konnten wir ein paar Stunden nach dem Tode die Sektion vornehmen und das Exsudat und die Pia mater mit all den Vorsichtsmaßregeln untersuchen, die bei so feinen mykologischen Untersuchungen nötig sind, die wir aber hier, da allgemein bekannt, nicht wiederholen werden. Von dem Exsudate wurden Trockenpräparate gemacht und vorzugsweise mit einer schwachen alkoholischen Methylenblaulösung gefärbt. In allen Präparaten befanden sich konstant isolierte Mikrokokken oder in Gestalt von Diplokokken von etwas ovaler Form und noch etwas kleinerem Umfange, wenn sie als Diplokokken vereint waren. Sie sind frei in der intracellulären Flüssigkeit oder befanden sich im Protoplasma der weißen Zellen, selten in den endothelialen Zellen[1]). Einige Zellen enthielten 6 und 7 Diplokokken. Es ist uns in beiden Fällen nicht ge-

Italienische Originalarbeit.

„In due casi noi abbiamo potuto eseguire l'autopsia poche ore dopo la morte, e fare l'esame dell'essudato e della pia madre infiltrato, saddisfacendo alle molte cautele che si esigono in così delicate ricerche micologiche e che non staremo a ripetere perchè ormai note a tutti. Dell'essudato furono fatti preparati per disseccamento e colorati a preferenza con una debole soluzione alcoolica di turchino di metilene. In tutti i preparati si ritrovarono costantemente micrococchi isolati o in forma di diplococchi, di figura alquanto ovalare, e nel caso dei diplococchi riuniti di diametro minore. Essi sono liberi nel liquido intercellulare, ovvero si trovano dentro il protoplasma delle cellule bianche, raramente in quello delle cellule endoteliali. Alcune cellule presentano fino a 6—7 diplococchi. Non ci è riuscito in questi due casi di vederli riuniti in catenule.

1) A. Weichselbaum (Meningokokken mit besonderer Berücksichtigung anderer bei akuter Meningitis gefundenen Mikroorganismen) in Kolles und Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. III. p. 258 erwähnt unsere Untersuchungen nur mit folgenden Worten:

„Mit Rücksicht auf die intercelluläre Lagerung der von den oben genannten Autoren beobachteten Kokken ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß es sich hierbei um den später von mir aufgefundenen Diplococcus intracellularis meningitidis gehandelt hatte, obwohl derselbe innerhalb von Endothelien, wie es Marchiafava und Celli angaben, niemals vorkommt."

Augenscheinlich hebt er nur die Ausnahme hervor und erwähnt überhaupt nicht, daß wir zuerst die intracelluläre Lagerung des Diplococcus der epidemischen Genickstarre in den Exsudatzellen genau festgestellt haben.

lungen, sie als Ketten vereint zu sehen.

Wir haben zwar gesagt, daß wir sie in allen Präparaten fanden, wir müssen aber hinzufügen, nicht in derselben Anzahl. Es ist wahrscheinlich, daß die Teile, in denen das Exsudat weniger reichlich ist, diejenigen sind, die die größere Anzahl Mikrokokken enthalten. In einigen Präparaten, in denen sie reichlich vorhanden sind und auch in den Zellen, glaubt man Präparate von Gonorrhöeeiter vor sich zu haben; in letzterem sind die Mikrokokken aber zahlreicher in den Zellen und vielleicht auch größer.

Auf dieselbe Weise wurden von denselben Individuen Blutpräparate des rechten Herzens und des Milzsaftes gemacht, aber hier gelang es uns nicht, irgend welche Mikroorganismenart zu finden. Dies bestätigt die Güte der angewandten Methode, schließt gleichzeitig einen zufälligen Befund aus und beweist, daß sich die Mikroorganismen an den Stellen befinden, wo die hauptsächlichsten Alterationen stattfinden und läßt es wahrscheinlich erscheinen, daß sie mit diesen in irgend einer Beziehung stehen.

Es gelang ebenfalls, dieselben Mikroorganismen in den Geweben zu sehen, aber nicht so anschaulich wie in den Trockenpräparaten. Sie finden sich gewöhnlich in kleinen Gruppen im Exsudat und färben sich mit Methylenblau und mit Vesuvin.“

Abbiamo detto che si trovarono costantemente in tutti i preparati, aggiungiamo però che non nella stessa quantità. È probabile che le parti in cui l'essudato è meno abbondante siano quelle che contengano un maggior numero di micrococchi. In alcuni preparati, in cui essi sono molto abbondanti, e si contengono anche entro le cellule, si ha l'immagine dei preparati del pus della gonorrea; in questo però i micrococchi sono molto più abbondanti entro le cellule e forse anche più grossi.

Negli stessi individui furono fatti collo stesso metodo preparati del sangue del cuore destro e della polpa splenica, ma in questi non si riuscì a trovare alcuna forma di microrganismo. La quale cosa mentre accerta la bontà del metodo adoperato, esclude la eventualità d'un reperto accidentale, e dimostra che i microrganismi si ritrovano nel luogo dell'alterazione principale, e rende verosimile che essi stiano in intimo rapporto con questa.

La dimostrazione degli stessi microrganismi nei tessuti riesce egualmente, ma non colla stessa evidenza come nei preparati per disseccamento. Essi si trovano generalmente in piccoli gruppi in mezzo all' essudato, e si colorano tanto col turchino di metilene quanto colla vesuvina.“

Nach dieser Beschreibung kommen wir zu folgender Schlußfolgerung:

„Es ist indessen bestimmt, daß man im Exsudate bei epidemischer Genickstarre Mikroorganismen findet, gewöhnlich in Gestalt von Diplokokken, die man weder im Blute, noch in anderen Organen findet.“

„È certo intanto che nell'essudato della meningite cerebro-spinale epidemica si ritrovano microrganismi in forma generalmente di diplococchi, i quali non si ritrovano nè nel sangue nè in altri organi.“

Es ist also zweifellos festgestellt, daß wir zuerst die gonokokkenartigen Mikrokokken der Genickstarre gesehen und

beschrieben haben, die später von Weichselbaum wiedergefunden und kultiviert worden sind.

Bei der Entdeckung der Aetiologie der epidemischen Genickstarre ist dasselbe vorgefallen, wie bei der Entdeckung der Typhusätiologie. Eberth beschrieb den Bacillus, den später Gaffky wiedersah und kultivierte.

Eberth ist Gerechtigkeit widerfahren, uns nicht.

Unsere medizinische Literatur ist wegen der mangelhaften Verbreitung unserer Sprache zu wenig bekannt und wird deswegen nur allzu häufig beiseite gelassen.

Nachdem wir vergeblich erwartet haben, daß uns ebenfalls Gerechtigkeit widerführe, haben wir uns endlich entschlossen, in dieser Zeitschrift auf Deutsch eine im Jahre 1884 von uns erschienene Arbeit wieder zu veröffentlichen.

Ueber ein Toxin des Bacillus suisepticus. (Deutsche Schweineseuche.)

Von Dr. **Allan Macfadyen.**

Die zahlreichen Versuche, welche über den zur Bakteriengruppe der Septicaemia haemorrhagica gehörigen Bacillus suisepticus gemacht worden sind, haben wenig Positives in Betreff der Bildung von spezifischen Toxinen durch diesen äußerst virulenten Mikroorganismus ermittelt.

Es ließ sich nur mit Bestimmtheit sagen, daß der Schweineseuchebacillus kein lösliches Gift sezernierte.

Die Beobachtungen sowohl von Smith und Moore, Voges u. A., als auch die später von Bruck ausgeführten Untersuchungen haben dies erwiesen. Bruck hat ebenfalls die Toxizität der Schweineseuchekulturfiltrate nach Autolyse probiert und kam zu dem Schlusse, „der Schweineseucheerreger bildet bei der Autolyse keine in Wasser löslichen Gifte“.

Da keine genauen Kenntnisse über die unzweifelhaft vorhandenen Schweineseuchegifte durch die üblichen Methoden erworben sind, muß deshalb versucht werden, ob man nicht durch andere Methoden mit besserem Erfolg arbeiten kann.

Da ich im Besitz von kräftigen Kulturen des Bacillus suisepticus war, benutzte ich die Gelegenheit, einige orientierende Versuche über die Frage ihrer giftigen Eigenschaften auszuführen, worüber ich jetzt eine kurze Mitteilung machen werde.

Gestützt auf die negativen Resultate anderer Beobachter, habe ich darauf verzichtet, nach löslichen Toxinen in flüssigen Kulturen des Bacillus suisepticus zu suchen und habe ausschließlich nach rein cellulären Giftstoffen geforscht.

Da die Virulenz des Schweineseucheerregers eine sehr variable ist, muß man bei jedem Versuch sorgfältig auf dieselbe prüfen. Die Experimente wurden mit Kulturen von geprüfter Virulenz ausgeführt. Ich hielt dies für besonders wichtig, da die großen Schwankungen und manchmal der Verlust an Virulenz der Kulturen darauf hinwies,

daß die intracellulären Faktoren (und mitunter fragliche Toxine), worauf das Wesen der Virulenz beruht, sensitive und labile Körper sein müssen.

Um die Gegenwart irgend spezifischer Toxine zu beweisen, schien es deshalb zweckmäßig, nicht nur virulente Kulturen, sondern auch schonende Methoden zu benutzen, und durch Halten an diese Versuchsbedingungen kam ich in die Lage, positive Resultate zu erzielen.

Die Schweineseuchestämme waren, wie gesagt, von geprüfter Virulenz für Versuchstiere. Die weitere Methode bestand darin, durch Zerreibung der lebenden Bacillen mit Hilfe der in früheren Mitteilungen beschriebenen Gefriermethode ihre Zellsäfte in möglichst unverändertem Zustand zu bekommen.

Die Agarkulturen wurden jedesmal zu diesem Zweck unmittelbar von dem Peritonealexsudat eines infizierten Meerschweinchens gemacht. In dieser Weise bekam man ein ausreichendes Wachstum der virulenten Bacillen.

Nach Zerkleinerung der Mikroorganismen bei Temperatur von flüssiger Luft wurde die resultierende Masse in $^{1}/_{1000}$ Kalilauge aufgenommen und zentrifugiert. Das Produkt repräsentierte ein 10-proz. Extrakt der zerriebenen Bacillen.

Versuche mit den sterilen und unfiltrierten Extrakten von Schweineseuchebakterien.

In den ersten Versuchen wurde das gewonnene Material nicht filtriert, sehr vorsichtig mit Chloroformdampf behandelt und vor der Injektion auf Sterilität geprüft.

Meerschweinchen, die Dosen von 1 ccm und 0,5 ccm intraperitoneal erhielten, starben binnen 18 Stunden, während 0,1 ccm die Tiere krank machte. Ein Kaninchen wurde nach intravenöser Injektion von 1 ccm schwer krank. Mäuse starben nach intraperitonealen Dosen von 0,5 und 0,1 ccm innerhalb 12—18 Stunden. Die Mäuse waren schon 1 Stunde nach der Injektion krank und lagen regungslos auf der Seite. Nach Kneifen des Schwanzes zeigten die Tiere Krämpfe. Dieser narkotische Zustand dauerte stundenlang, bis endlich der Tod eintrat, und es wurden Lungenblutungen nachgewiesen.

Die subkutane Einspritzung von 4 ccm tötete das Meerschweinchen auch in akuter Weise. Die Lungen zeigten pneumonische Herde und die Leber war hyperämisch. Mäuse wurden nach subkutanen Dosen von 0,5 ccm sehr krank, und 1 ccm bei peritonealer Injektion hatte denselben narkotischen Zustand und Tod zur Folge. Die Lungen waren ebenfalls entzündet.

In weiteren Versuchen zeigten sich 0,3 und 0,1 ccm intraperitoneal für Meerschweinchen akut tödlich, während 2 ccm subkutan nach 48 Stunden töteten.

Ein Kaninchen starb nach einer intravenösen Injektion von 2 ccm binnen 48 Stunden.

Diese Versuche demonstrierten die Existenz eines akut wirkenden Endotoxins beim Schweineseuchebacillus.

Versuche mit den filtrierten Zellsäften von Schweineseuchebakterien.

In diesem Versuche wurde die Virulenz des Bacillus suisepticus durch Tierpassagen so weit als möglich erhöht, und die aus den Bakterienleibern gewonnenen Zellsäfte durch Kieselguhrkerzen filtriert. Die Filtrate waren klar und bakterienfrei.

Die Toxizität der filtrierten Zellsäfte von den hochvirulenten Bakterien war sehr markiert. Meerschweinchen wurden nach intraperitonealer Injektion der filtrierten Zellsäfte in Dosen von 2, 1, 0,5 und 0,3 ccm sofort sehr krank und starben binnen 18 Stunden. Der Dünndarm war mit Flüssigkeit ausgefüllt und akut entzündet, und es waren Blutungen im Magen. Die ermittelte tödliche Dosis betrug für das Meerschweinchen 1,5 mg fester Substanz.

Subkutan war 1 ccm der filtrierten Zellsäfte auch für Meerschweinchen akut tödlich. Am Orte der Injektion war ein hämorrhagisches Toxinödem vorhanden — 0,5 ccm tötete auch Mäuse subkutan. Für Kaninchen waren die filtrierten Zellsäfte des Bacillus suisepticus intravenös von ausgesprochener Giftigkeit, z. B. eine Dosis von 2 ccm tötete ein Kaninchen nach 1 Stunde, 1 ccm verursachte binnen 1 Stunde Ohnmacht, akute Diarrhöe und Tod nach 18 Stunden, und $^1/_{10}$ ccm ($^1/_2$ mg fester Substanz) machte das Tier sofort krank und der Tod erfolgte binnen 48 Stunden.

Die Versuche beweisen, daß unter Benutzung virulenter Kulturen der Schweineseuchebacillen sich aus den Bakterienzellen durch die angewandte Methode ein akut wirkendes Gift extrahieren läßt. Dieses Gift ist filtrierbar und wirkt auf Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse akut toxisch.

Die Zukunft muß lehren, ob die volle Immunisierungskraft des Schweineseucheerregers unter Benutzung seiner frischen und bakterienfreien Zellsäfte besser zur Geltung kommen wird, als unter Benutzung der intakten Bacillenleiber.

Ich füge hinzu, daß ich aus dem Hogcholerabacillus (Maryland von Theobald Smith) auch giftige Zellsäfte gewonnen habe, indem 1 ccm intravenös ein Kaninchen nach 5 Stunden tötete, und 0,5 ccm, intraperitoneal injiziert, gleichfalls für Mäuse tödlich war.

London, Kings College.

Literatur.

Wassermann, A. und Ostertag, R., Zeitschr. f. Hygiene. 1904. p. 416.
Bruck, C., ibid. p. 428.

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Befunde bei einer Fleischvergiftungsepidemie.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten, Bern. Direktor: Prof. Dr. W. Kolle.]

Von Privatdozent Dr. **O. Heller**,
I. Assistenten am hyg.-bakt. Institut der Universität Bern.

Vor einiger Zeit brach in einer kleineren Ortschaft Gr. in der Schweiz eine Epidemie aus. Die meisten Erkrankten zeigten hauptsächlich Symptome, bestehend in akuten Störungen der Magen- und Darmfunktionen. Im Verlauf weniger Tage wuchs die Zahl der Patienten in der 5—600 Einwohner zählenden Ortschaft auf 36. Die sofort eingeleiteten Ermittelungen nach der Krankheitsursache ergaben, daß die meisten Personen ihre Erkrankung auf Genuß geschmorter Leberwurst zurückführten, die sie 1—2 Tage vor Eintritt der ersten Krankheitssymptome gegessen haben wollten. Bei weiterer Umfrage wurde festgestellt, daß alle Personen, welche von den verdächtigen Würsten gegessen hatten, akut erkrankt waren, und andererseits, daß auch alle Personen, die erkrankt waren, von den fraglichen Leberwürsten genossen hatten. Dieser präzise Zusammenhang zwischen Wurstgenuß und Erkrankung trat überall zutage so, daß z. B. in Familien, in denen nur ein Teil der Familienglieder von der Wurst genossen hatte, gerade dieser erkrankte, während die anderen gesund blieben. Die Erkrankung begann mit Frost und Temperatursteigerung (39,5°), starken Leibschmerzen, Erbrechen, heftigen Koliken, unstillbaren Diarrhöen. In schweren Fällen wurde das Krankheitsbild geradezu ein choleraartiges; die Temperatur sank im Verlauf der Krankheit weit unter die Norm, es stellten sich Krämpfe und Lidmuskellähmungen ein. Die Dauer der Krankheit währte 6—14 Tage. Bei zwei Patientinnen trat ein Abort ein. Von den erkrankten 36 Personen starben 4, ein recht hoher Prozentsatz (11,11 Proz.). Bei der Bedeutung des schädlichen Agens in der Wurst für die gerichtliche Beurteilung der Epidemie wurde alles verdächtige Wurstmaterial konfisziert und dem Chemiker (!) zur Untersuchung eingesandt. Herrn Prof. Howald in Bern, welcher die letzte der 3 Sektionen vornahm, verdanke ich die liebenswürdige Ueberlassung der folgenden Angaben.

Bei der zuerst sezierten Leiche wurden an Magen- und Darmwand keine auffallenden Veränderungen konstatiert. Ob dieses negative Resultat seinen Grund in der relativen Kürze der Krankheitsdauer von nur 4 Tagen oder in anderen Umständen seinen Grund hat, läßt sich nicht entscheiden. Dagegen zeigten die beiden anderen Leichen, wie das ja zu erwarten war, deutlich ausgesprochene Entzündungserscheinungen der Magen- und Darmwand. In dem einen Fall war die Schleimhaut geschwellt, blutreicher als normal, sowie stellenweise von kleinen Blutungen durchsetzt, die Follikel des unteren Dünndarmteils waren vergrößert. Die Mesenterialdrüsen waren etwas vergrößert. Im anderen Fall fanden sich neben starker Schwellung der Darmschleimhaut und bedeutender Hyperämie kleine Blutungen. Den wichtigsten Befund bildeten aber zahlreiche kleinere und größere Geschwüre, welche in der oberen Hälfte des Dickdarms gelegen waren. Dieselben, im ganzen

von unregelmäßiger Form, reichten bis auf die Muscularis und flossen an vielen Stellen zu umfangreichen Defekten zusammen. Die Geschwürsränder waren scharf, nicht unterminiert und zeigten nicht die geringste Andeutung von einer sogenannten markigen Schwellung.

Des weiteren wurde, wahrscheinlich als direkte Folge dieser Magen- und Darmaffektion, eine parenchymatöse Degeneration im Sinn der trüben Schwellung und der Verfettung in Herzmuskel, Leber und Niere konstatiert. — Endlich ist noch hervorzuheben, daß die Milz in keinem der 3 sezierten Fälle irgendwelche Schwellung zeigte.

Bei Gelegenheit der Sektion des J. B. wurden von Prof. Howald Kulturen und Deckglaspräparate angelegt und dem Institut zur Untersuchung übersandt. Später kam das Material in meine Hände, so daß es mir möglich wurde, die folgenden Untersuchungen anzustellen.

Das Protokoll der ersten mikroskopischen Prüfung hat folgenden Wortlaut:

Herz. a) Gefärbte Deckglaspräparate: Viele längere und kürzere, ziemlich dicke, meist zu zweien hintereinander liegende Bacillen, Enden abgerundet, hie und da wie in einer Kapsel; die Stäbchen sind nach Gram nicht färbbar. b) Kultur auf Agar: Coliforme Bacillen ähnlich den in Deckglaspräparaten nachgewiesenen. Daneben im Hochagar malignem Oedem ähnliche, grampositive Stäbchen. — Kokken zu 2 (Diplostreptokokken).

Milz. a) Deckglaspräparate: Aehnlicher Befund wie im Herz, jedoch fehlen längere Exemplare. b) Kultur auf Agar. Makroskopisch: Coliforme, irisierende Beläge, einzelne Kolonieen rundlich, grauweiß, mittelgroß. Dazwischen opakere, weißlichere Kolonieen. Mikroskopisch: Kleine gramnegative, coliforme Bacillen. Kondenswasser stark trüb, etwas dicklich. Kein Gas. Lebhaft beweglich. Agar anaërob: nur coliforme.

Leber. a) Deckglaspräparate: Vereinzelte, nicht ganz sichere Exemplare, wie oben. b) Kultur auf Agar: Etwa 60 Kolonieen groß, rund, scharf begrenzt, mittlere Partie dellenartig eingezogen, von einem erhabenen Saum umgeben, der nach der Randzone abfällt. Einzelne Kolonieen ziemlich dick, saftig glänzend, undurchsichtig; Neigung zum Konfluieren. Coliforme, gramnegative Bacillen. Bewegung fraglich.

Lunge. a) Deckglaspräparate nicht hergestellt. b) Kultur: Coliforme Bacillen, Streptokokken.

In diesen Untersuchungsergebnissen ist verschiedenes von Wichtigkeit und zwar: in erster Linie der Nachweis coliformer Stäbchen in sämtlichen Kulturen; einmal wird dabei eine lebhafte Beweglichkeit konstatiert (Milz), später wird diese in Zweifel gezogen (Leber). Die in der Hochagarstichkultur nachgewiesenen grampositiven Stäbchen waren schon von anderer Seite (Dr. Sch.) in Schnitten gefunden worden. Von gleicher Seite war die Vermutung ausgesprochen, es könne sich um Milzbrandbacillen handeln; die ganze Epidemie sei demnach durch den Genuß milzbrandbacillenhaltigen Fleisches entstanden. Ohne auf weitere Unwahrscheinlichkeiten dieser Ansicht einzugehen, beschränken wir uns darauf, auf die Anaërobiose des fraglichen Mikroorganismus hinzuweisen, ein Verhalten, welches Milzbrand völlig ausschließt. Aber ein anderer Gedanke liegt nicht fern. Das vorliegende anaërobe Stäbchen könnte der Bacillus botulinus sein. Doch fehlten in den Kulturen sowohl die charakteristischen Merkmale des Bacillus botulinus als nach der subkutanen Verimpfung der Kulturen auf Tiere die Lähmungserscheinungen. Wir müssen vielmehr nach Morphologie und Biologie das Bakterium für einen anaëroben Bacillus aus der Gruppe der von Albrecht und Ghon beschriebenen Bakterien des malignen Oedems halten. Die Streptokokken in den aus der Lunge hergestellten Kulturen erklären sich durch die auch bei der Sektion festgestellte lobäre Pneumonie.

Bei näherer Prüfung zeigte sich, daß die aus Milzmaterial gewonnenen Kulturen keine Reinkulturen waren, sondern ein Bakteriengemisch dar-

stellten. Sämtliche Stämme wurden daher mehrfach über die Platte geschickt, isoliert, und so erhielt man, abgesehen von den oben erwähnten, nicht zur Coli-Gruppe gehörigen Bakterienarten, 4 Kulturen, von denen 3 als coliforme, offenbar identische Bakterien (Darmbakterien!) erkannt wurden, und zwar je einer aus Milz, Leber und Herz gewonnen war, während die vierte Kultur, ein dem Paratyphusbacillus morphologisch und kulturell ähnliches Bakterium, nur in der Milz nachzuweisen war.

Da die Identität der 3 erstgenannten Kulturen morphologisch und biologisch erwiesen ist, begnügen wir uns mit der Wiedergabe des Endresultates der Prüfung dieser Stämme, bei denen es sich offenbar um postmortal eingewanderte Bakterien handelt, welche die paratyphusähnlichen Bacillen überwucherten. Die Kulturen, in den Protokollen als Stamm Herz, Leber und Milz weiße bezeichnet, zeigten mikroskopisch coliforme, gramnegative Stäbchen, kurz und dick, mit abgerundeten Enden und bei Methylenblaufärbung mit besonders deutlicher ungleichmäßiger Tingierung des Bacillenkörpers; viele Stäbchen zeigten in der Mitte Vakuolen. Dieser Bacillus war nicht beweglich. Die Kolonie auf Agar war rund, gleichmäßig, von regelmäßigen Konturen, weißlich-grau, mehr in das Weiße spielend, saftig glänzend, bei durchfallendem Licht etwas irisierend. Die Oberfläche der Kolonie ist glatt. — Entsprechend ist das Wachstum auf der

Schrägagarkultur: Das Kondenswasser ist gleichmäßig getrübt, mit geringem Depot.

Auf Serum: Deutliches, aber weniger reichliches Wachstum, im übrigen mit der Agarkultur übereinstimmend.

Agarstichkultur: Im ganzen Stich gleichmäßiges Wachstum, desgleichen auf der Oberfläche, sonst keine Besonderheiten.

Traubenzuckeragarstichkultur: Wie die vorige, ohne Gasbildung.

Bouillonkultur: Gleichmäßig trüb, etwas Depot.

Traubenzucker-, Milchzucker-, Rohrzucker-Bouillon: Keine Gasbildung.

Milch: Wird nicht koaguliert, im Aussehen selbst nach Wochen nicht verändert; Reaktion: Deutlich sauer.

Gelatine: Nicht verflüssigt, Aussehen der Kolonie ohne Besonderheiten.

Indolbildung: In jungen Bouillonkulturen schwach, in 6 Tagen alten sehr intensiv.

Kartoffel: Nach 24 Stunden reichlicher, schmutzig-gelber dicker Belag.

Neutralrotgelatine bei 37° und Neutralrotagar: Fluoreszenz.

Diese Charaktere harmonieren nicht mit den Eigenschaften der Bakterien, die bisher bei Fleischvergiftungen nachgewiesen wurden. Da das Material, welches die Krankheitserreger enthielt, durch die chemische Untersuchung, die übrigens in der Frage nach der Krankheitsursache ein negatives Resultat hatte, einer bakteriologischen Prüfung leider verloren gegangen war, blieb uns für den Nachweis, daß die fraglichen Bakterien in ätiologischem Zusammenhange mit den Erkrankungen ständen, außer dem Tierexperiment vor allem nur das Verhalten unseres Bakteriums zu dem Blutserum der seinerzeit akut unter gleichen Erscheinungen, wie J. B. erkrankten, in zwischen genesenen Personen. Die Tierexperimente sind nicht entscheidend. Die Fütterungsversuche verliefen ohne Resultat. Subkutane Infektionen bei Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen führten nach 2 Tagen zum Tod der Tiere, ohne daß bei der Sektion besonders charakteristische Schädigungen gefunden werden konnten. Toxische Stoffe in abgetöteten Bouillonkulturen, wie sie bei den Fleischvergiftungsbakterien der Gärtnerschen und van Ermengemschen Gruppe diagnostisch von gewisser Bedeutung sind, waren nicht zu konstatieren.

Herr Dr. Marchesi, der die betreffenden Fälle behandelt hatte, hatte deshalb auf unsere Bitte die Liebenswürdigkeit, bei mehreren Rekonvaleszenten Venaesektionen vorzunehmen und uns Blutproben zuzu-

senden. Es sei ihm hierfür sowie für seine detaillierten Angaben über den Verlauf der Krankheit bei den einzelnen Personen an dieser Stelle unser Dank wiederholt. — Die mit dem Rekonvaleszentenserum angestellten Agglutinationsproben hatten selbst bei geringen Verdünnungen mit den an erster Stelle charakterisierten Bakterienstämmen kein Ergebnis (cf. Tab.). Aus diesem Grund und mit Rücksicht darauf, daß die Sektion erst 36 Stunden post mortem vorgenommen werden konnte, bleiben für uns nur zwei Möglichkeiten offen: entweder handelt es sich um eine postmortale Bakterienüberschwemmung des Körpers, wofür in gewisser Weise der Nachweis vom Bacillus des malignen Oedems im Herzblut neben den coliformen Bakterien spricht. Es bliebe neben dieser Möglichkeit noch die Deutung offen, daß es sich bei den 3 coliformen Bakterien um eine Sekundärinfektion am Ende der Krankheit handelt. Denn keinesfalls lassen sich hinreichende Gründe dafür angeben, daß sie mit den Erkrankungen und dem vorhergegangenen Wurstgenuß in Zusammenhang zu bringen sind.

Es kommt somit als weitere ursächliche Möglichkeit für die Epidemie der nur in der Milz gefundene Mikroorganismus in Betracht. Es blieb also übrig, den Beweis zu führen, daß der vierte, dem Paratyphus ähnliche Bacillus der Erreger der Epidemie war. Derselbe ist ein kurzes, plumpes Stäbchen mit abgerundeten Enden von der Form des Bacterium coli, besitzt Vakuolen, dagegen keine Kapsel. Er ist mit allen wäßrigen Anilinfarben leicht färbbar, entfärbt sich nach Gram. Das Bakterium wächst gut bei Sauerstoffgegenwart, jedoch auch anaërob, und zwar sowohl im Brutschrank bei 37° wie bei Zimmertemperatur.

Bouillon wird gleichmäßig getrübt und zeigt etwas Depot, jedoch keine Häutchenbildung und keinen besonderen Geruch.

Milch wird selbst nach wochenlangem Wachstum nicht zur Gerinnung gebracht, doch beginnt sie sich allmählich aufzuhellen und ins Gelbliche zu verfärben. Nach 4 Wochen ist die Farbe leicht hellbraun. — Die Reaktion der Milch ist alkalisch.

Die Zuckergärungsprobe ergab eine Vergärung von Traubenzucker unter Gasbildung; Milchzucker und Rohrzucker wurden nicht nachweislich verändert.

Die Gelatinekultur zeigte ein grauweißliches Wachstum ohne besonders charakteristisches Aussehen ohne Verflüssigung, ähnlich wie die Kultur auf Schrägagar, welche ein reichliches Wachstum coliartigen Charakters aufwies mit etwas grauer Verfärbung der Kolonie.

Die Traubenzuckeragarstichkultur war durch Gasentwickelung völlig zersprengt.

Auf der Kartoffel entwickelte sich innerhalb 24 Stunden ein dicker, schmutzig gelbbrauner Belag.

Sporen werden nicht gebildet.

Die Beweglichkeit ist lebhaft, ähnlich dem Bacterium typhi.

Nach der Geißelfärbung erwies sich das Bakterium als ein Peritrichon mit 6–8 Geißeln.

Indol wurde nicht gebildet; die Probe wurde mit 24-stündigen und 6 Tage alten Kulturen vorgenommen.

Neutralrotgelatine fluoreszierte nach 12–20 Stunden. Neutralrotagar nach 36–48 Stunden.

Durch Erhitzen abgetötete Bouillonkulturen wirkten in größerer Quantität bei Verfütterung toxisch, doch nicht mit Regelmäßigkeit, eine Erscheinung, die sich bekanntlich bei den echten Erregern der Fleischvergiftung findet, wenn sie längere Zeit auf künstlichen Nährböden gezüchtet werden.

Sämtliche Charaktere stimmen also überein mit dem Typus der Fleischvergiftungsbakterien, wie er in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX von B. Fischer beschrieben ist. „Bei den Fleischvergiftungen im engeren Sinn wurden“, so sagt Fischer, „durchweg nicht sporenbildende

bewegliche, die Gelatine nicht verflüssigende gramnegative Kurzstäbchen beschrieben, die nach ihren morphologischen und kulturellen Eigenschaften dem Typhus- und Coli-Bakterium verglichen werden können; von ersterem lassen sie sich jedoch dadurch unterscheiden, daß sie coliartiges Wachstum auf der Kartoffel zeigen und Traubenzucker vergären, von letzterem dadurch, daß sie wohl Traubenzucker, nicht aber Rohr- und Milchzucker vergären und die Milch nicht zur Gerinnung bringen. Die Mehrzahl der als Fleischvergiftungsbakterien beschriebenen Organismen bildet kein Indol und ist durch eine besondere Infektiosität ausgezeichnet und durch die Fähigkeit, giftige Stoffe zu bilden, welche das Kochen vertragen. Das bakteriologische Verhalten dieser Bakterien spricht nach Fischers Meinung dafür, daß sie als nahe Verwandte des Bacillus suipestifer (Hogcholera) zu betrachten sind.

Da wir den fraglichen Mikroorganismus nach seinen Eigenschaften also in die Fleischvergiftungsbakterien einreihen müssen, so war nunmehr noch die Frage zu beantworten, ob er auch die Ursache der Epidemie gewesen ist. — Allerdings lag die Zeit der akuten Krankheitsfälle bereits wochenlang zurück, so daß eine bakteriologische Untersuchung anderer Personen aussichtslos erschien. Als Möglichkeit, einen Zusammenhang nachzuweisen, bot sich uns nur noch in der Prüfung von Rekonvaleszentenserum auf den Gehalt spezifischer Agglutinine. Von einer größeren Anzahl der 30 Patienten übersandte uns Herr Dr. Marchesi Blutproben. Die Agglutinationsproben ergaben bei makroskopischer Beobachtung positive Resultate in Verdünnungen von 1 : 500, 1 : 200, 1 : 100 und 1 : 70, während der Kontrollversuch mit dem Serum eines gesunden Menschen schon bei 1 : 10 negativ blieb und ein hochwertiges Typhusimmunserum das fragliche Bakterium nur bis 1 : 100 agglutinierte (cf. Tabelle).

Agglutinationstabelle. (Grenzwerte.)

	Serum H. B.	Serum Schi.	Serum Schu.
Stamm Herz:	0	0	0
	Serum H. B.	Serum Schi.	Serum Schu.
Stamm Milz:	1 : 500	1 : 200	1 : 100
(graue Kol.)	+	++	++
	Serum F. B.	Serum Bo.	Normalserum vom Menschen
	1 : 200	1 : 70	1 : 10 1 : 20—1 : 500
	++	++	? 0

Aus diesen Resultaten folgt deutlich der enge Zusammenhang zwischen den fraglichen Mikroben und der Epidemie. Ein Beweis für die Vermittelung der Infektion durch verdorbene Wurst, wie er gerichtlich von besonderer Bedeutung gewesen wäre, war nicht mehr zu erbringen, da, wie erwähnt, die suspekten Stücke in die Retorten des Chemikers gewandert waren, ohne jedoch die geringste Aufklärung über die Ursache der Epidemie zu geben.

Zur näheren Präzisierung der Stellung unseres Fleischvergiftungsbakteriums zu verwandten Arten unternahmen wir noch vergleichende Agglutinationsproben mit Immunserum. Da inzwischen die außerordentlich umfangreichen Untersuchungen von Kolle, Kutscher und Meinicke die Beziehungen zwischen Paratyphus verschiedener Provenienz, Enteritis- und Mäusetyphusbakterien geklärt haben, so wird man aus den folgenden Resultaten die Stellung des Epidemieerregers erkennen.

Ein Serum für Bacterium coli commune Titre 1 : 20000 hatte folgende Werte gegenüber unserem Stamm:

1:10	1:20	1:30	1:50	1:70	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
++	++	++	++	++	+	+	+	?	0

Hochwertiges Typhusimmunserum agglutinierte ihn von 1:10++ bis 1:100++.

Ein Serum für Bact. paratyphi Typus A mit einem Titre 1:40000 agglutinierte

Bact. paratyphi Typus B	bis 1:500
Bact. typhi	bis 1:70
Bact. suipestifer	bis 1:70
Bact. enteritidis Gärtner	bis 1:50
Unser Fleischvergiftungsbakt.	bis 1:70
Bact. coli commune	bis 1:30 ?

Serum für Bact. paratyphi Typus B mit einem Titre von 1:100000 agglutinierte

Bact. paratyphi Typus A	bis 1:50
Bact. typhi	bis 1:70
Bact. suipestifer	bis 1:4000
Bact. ent. Gärtner	bis 1:100; 1:200 war fraglich
Unser Fleischvergiftungsbakt.	bis 1:300
Bact. coli commune	bis 1:20

Serum für Bact. suipestifer mit einem Titre von 1:40000 agglutinierte

Bact. paratyphi Typus A	bis 1:70
Bact. paratyphi Typus B	bis 1:5000; 1:10000 war fraglich
Bact. enterit. Gärtner	bis 1:10
Unser Fleischvergiftungsbakt.	bis 1:30
Bact. coli commune	bis 1:30

Serum für Bact. enteritidis Gärtner mit einem Titre von 1:100000 agglutinierte

Bact. paratyphi Typus A	bis 1:100
Bact. paratyphi Typus B	bis 1:300
Bact. typhi	bis 1:30
Unser Fleischvergiftungsbakt.	bis 1:70000
Bact. der Fleischverg. Aertryck	bis 1:10000
Bact. suipestifer	bis 1:50
Bact. morbificans bovis Basenau	bis 1:20
Bact. dysenteriae Shiga-Kruse	bis 1:20
Bact. typhi murium Loeffler	bis 1:20; 1:100 fraglich.
Bact. coli commune	gar nicht.

Serum für unser Fleischvergiftungsbakterium mit einem Titre von 1:200000 agglutinierte

Bact. paratyphi Typus A	bis 1:200
Bact. paratyphi Typus B	bis 1:10000
Bact. typhi	bis 1:100
Bact. enteritidis Gärtner	bis 1:50000
Bact. der Fleischverg. Aertryck	bis 1:20000
Bact. suipestifer	bis 1:20
Bact. morbific. bovis	bis 1:50
Bact. dysenteriae Shiga-Kruse	gar nicht
Bact. typhi murium Loeffler	bis 1:100; 1:200 fraglich
Bact. coli commune	bis 1:20

Ein Serum, welches für das Bakterium der Fleischvergiftung Aertryck einen Titre von 1:200000 besaß, hatte sehr geringe Werte für Baccillus enteritidis Gärtner und für unser Fleischvergiftungsbakterium, dagegen für Bacterium typhi murium einen Wert von 1:10000.

Aus diesen Agglutinationsversuchen geht also hervor, daß die Resultate bereits bekannten Tatsachen entsprechen. So ist z. B. die nahe

Verwandtschaft zwischen dem Bacterium paratyphi Typus B und dem Bacterium suipestifer aufs neue erwiesen (cf. H. Smidt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. p. 24). Auch harmonieren diese wenig zahlreichen Resultate mit den Ergebnissen Kutschers und Meinickes (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. 1906. p. 301.) Bekanntlich kamen Kutscher und Meinicke bei ihren ausgedehnten Versuchsreihen zu dem Ergebnis, daß kulturell die Erreger des Paratyphus B, des Mäusetyphus und der Fleischvergiftung (Enteritisbakterien) nicht voneinander zu trennen sind, wohl aber vom Typhus, vom Paratyphus A, vom Bacillus dysenteriae und Bacterium coli. Bei Agglutinationsversuchen aber zeigen Paratyphus B und Enteritisstämme nur geringe individuelle Unterschiede. Diese Verwandtschaft finden wir auch in unseren Versuchen bestätigt. Man erhält natürlich bei den einzelnen Agglutinationsproben in den Grenzwerten hie und da nicht unbedeutende Unterschiede, doch übertreffen die Werte stets die Agglutinationsergebnisse anderer Bakterien beträchtlich. Die Tatsache, daß die Titredosis des betreffenden Serums nicht ganz erreicht ist, erklärt sich ungezwungen durch die Phänomene, auf die wir das charakteristische Verhalten schwer agglutinabler Stämme zurückführen. Bei den Agglutinationsproben mit den Seren der Fleischvergiftungen (Gärtner, Aertryck) ergeben sich deutliche Unterschiede, die im weiteren bestätigt werden durch das Verhalten unseres Stammes. Der bei der hier besprochenen Epidemie gefundene Bakterienstamm zeigt in der Agglutination besondere Verwandtschaft mit dem Typus Gärtner, wenngleich von seinem Immunserum auch der Typus Aertryck, aber in geringerem Maße, agglutiniert wird.

Aus unseren Untersuchungen ergeben sich also in Kürze folgende Schlußsätze:

1) Bei einer epidemisch im Anschluß an Wurstgenuß auftretenden Enteritis, infolge deren einige Todesfälle eintreten, wird aus einer Leiche ein Bakterium isoliert, das den Typus der Fleischvergiftungsbakterien darstellt.

2) Die bakteriologische Untersuchung des verdächtigen Nahrungsmittels ist unmöglich gemacht, infolgedessen auch der Nachweis des Bakteriums in demselben.

3) Der ätiologische Zusammenhang des Bakteriums mit der Epidemie ist bewiesen durch Vornahme von Agglutinationsproben mit Rekonvaleszentenserum, die bis zu einer Verdünnung von 1:500 positiv ausfallen.

4) Prüfungen mit Immunserum bestätigen die Zugehörigkeit des Krankheitserregers zur Gruppe der Fleischvergiftungsbakterien, und zwar zum Typus des Paratyphusbacillus.

5) Dem Bacillus enteritidis Gärtner steht der Bacillus der Epidemie Gr. sehr nahe, unterscheidet sich aber kulturell durch den Mangel von Gasbildung in milch- und rohrzuckerhaltigen Nährböden.

6) Es läßt sich nicht mit Sicherheit feststellen, daß das qu. Wurstfleisch von einem kranken Tier stammt.

Nachdruck verboten.

Berichtigungen zu der Publikation Siegels „Zur Kritik der bisherigen Cytorrhyctesarbeiten"[1]).

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten.]

Von Marinestabsarzt Dr. P. Mühlens und Privatdozent der Zoologie Dr. Max Hartmann.

Siegel schreibt p. 130: „Hiermit will ich mit der Besprechung des Wechselmannschen Kontrollversuches abschließen. Ich hatte ursprünglich nicht angenommen, daß jemand, der mit kritischem Auge diesen Versuch lesen würde, die Schwächen desselben übersehen könnte und hätte deswegen kaum Notiz von ihm genommen, aber da er in einer weiter unten zu besprechenden Polemik gegen mich als vollgültiges Argument verwertet wird (Mühlens und Hartmann), war ein Eingehen nicht zu unterlassen, um so mehr als hierdurch gezeigt werden kann, mit welchen Argumenten die letztgenannten Autoren operieren." Hierzu bemerken wir, daß wir in unserer Arbeit[2]) p. 45 in der vorausgehenden Literaturbesprechung (Ueberschrift des Passus; „Literatur") wörtlich geschrieben haben: „Zusatz bei der Korrektur: Wechselmann (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 6) teilt mit, daß er durch Injektion von 3 ccm normalem Kaninchenblut bei einem *Macacus* Erscheinungen hervorgerufen habe, welche den von Siegel als Affensyphilis beschriebenen identisch oder mindestens sehr ähnlich sind." Wechselmann hatte die von Siegel infizierten Tiere selbst gesehen. Im übrigen haben wir uns jeder Aeußerung über die Wechselmannsche Beobachtung enthalten. Der objektive Leser möge daher selbst beurteilen, inwiefern hier von einem „vollgültigen Argument" in einer „Polemik" gegen Herrn Siegel die Rede sein kann und inwiefern Siegel damit gezeigt hat, mit welchen Argumenten wir operiert haben.

Pag. 226 schreibt Siegel: „Von Mühlens und Hartmann werden diese sehr wichtigen Untersuchungen Rogers gar nicht erwähnt." Antwort: Weil sie uns entgangen waren, sonst hätten wir sie gewiß mit den von uns erwähnten ähnlichen Versuchen von Calmette und Guérin, sowie Magrath und Brinckerhoff angeführt.

Pag. 228 heißt es: „Nach dieser, wie mir scheint, zur Beurteilung der ganzen Frage durchaus notwendigen Exkursion bleibt noch übrig, auf einzelne Punkte der Mühlens und Hartmannschen Arbeit einzugehen. Diese Einzelheiten sind aber mehr sekundärer Art, da sie mehr auf Ansichten als auf Beweisen beruhen und schließlich alle auf die irrtümliche Prämisse zurückzuführen sind, daß beim Kaninchen der Erreger nicht im Blute kreise."

Wer unsere Arbeit einigermaßen aufmerksam gelesen hat, der dürfte ohne Mühe erkennen, daß unsere daselbst niedergelegten Resultate nicht auf jene „irrtümliche Prämisse" zurückzuführen sind, sondern auf tatsächlichen Beobachtungen beruhen, die mit der Prämisse gar nichts zu tun haben. Eine Wiederholung können wir uns daher ersparen.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XLII. Heft 2. p. 128—132. Heft 3. p. 225—230 u. Heft 4. p. 321—325.

2) Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XLI. Heft 1. p. 41—53. Heft 2. p. 203—210. Heft 3. p. 338—343 u. Heft 4. p. 435—440.

Pag. 230 sagt Siegel von uns: „Wenn sie meine Parasiten wirklich gesehen hätten und zur Färbung eine Doppelfärbung, etwa Hämatoxylin und Eosin, oder u. s. w. benutzten, so würden sie sich von dem Vorhandensein dieser Bestandteile (Plasma und Kern) überzeugt haben, die allerdings den Hämokonien sicher nicht zukommen.“

Demgegenüber sei erwähnt, daß wir Doppelfärbungen, unter andern auch die oben erwähnte mit Hämatoxylin und Eosin, sowie die von Siegel anfänglich so gerühmte Hämatoxylin-Azur-Färbemethode genau nach Siegels Angabe (vergl. unsere Arbeit p. 50 u. 51) angewendet haben. Wären die neuerdings von Siegel empfohlenen Methoden schon bekannt gewesen, so hätten wir auch diese noch probiert. Ließen wir doch bei unsern mühsamen, so viel Zeit beanspruchenden Nachprüfungen der Siegelschen Arbeiten kein Mittel unversucht, um dem Autor nur ja nicht unrecht zu tun, entsprechend dem Rat unseres hochverehrten Chefs, Herrn Geheimrat Gaffky: „Man muß bei der Nachprüfung einer Arbeit mit der Absicht an sie herangehen, sie bestätigen zu wollen“.

Pag. 230 bemerkt Siegel: „Ich mache übrigens darauf aufmerksam, daß die charakteristischen Formen meiner Parasiten, die Sporulationsformen, die am beweisendsten für die Parasitennatur derselben sind, von den Autoren in ihren Zeichnungen gar nicht berücksichtigt werden, offenbar weil ähnliche Gebilde als Zufallsprodukte nicht gesehen wurden.“

Dazu sei nur auf die Fig. 23, 24 und 26 unserer Arbeit hingewiesen, die mit einigen von Siegel abgebildeten Sporulationsformen seiner „Parasiten“ vollkommen übereinstimmen.

Weiter sagt Siegel: „Das, was die Verfasser als Geißelbildungen zeichnen, kann man in jedem Blutpräparat jederzeit zeigen, ich kann nur nicht finden, daß Aehnlichkeit mit einer Geißel vorhanden ist.“ In den Erläuterungen zu unsern Abbildungen reden wir ebensowenig wie im Text (p. 230) von Geißelbildung, sondern von „sogenannten Geißeln“ bezw. „geißelartigen Fortsätzen“ oder „scheinbaren Flagellen“. Wir selbst sind weit entfernt, die in unsern Abbildungen wiedergegebenen „sogenannten Geißeln“ für echte Geißeln zu halten, wie wohl jeder unbefangene Leser unzweideutig aus unserm Text ersehen haben wird. Im übrigen möge man noch unsere Zeichnungen mit den von Siegel gegebenen Geißelabbildungen vergleichen, um zu sehen, daß gewisse Bilder Siegels den unseren zum mindesten sehr ähnlich sind.

Bezüglich der privaten Demonstrationen sei folgendes erwähnt: Es mußte selbstverständlich unser Bestreben sein, zunächst „die Parasiten“ an der Quelle (bei Herrn Siegel) genau kennen zu lernen, weshalb wir unabhängig voneinander Herrn Siegel wiederholt aufsuchten. Siegel schreibt über diese Demonstrationen p. 230: „Mühlens und Hartmann berufen sich auf den Eindruck, den private Demonstrationen meiner Parasiten bei ihnen hinterlassen hatten. Wie sehr solche Eindrücke auf den verschiedenen Seiten voneinander differieren können, mag folgendes zeigen. Als kurz vor der Drucklegung seiner Arbeit Herr Hartmann mir in Gegenwart der Herren Dr. Nissle und Dr. Walter Schulze ein Gebilde im gefärbten Blutpräparat demonstrierte, das er für identisch mit meinen Parasiten hielt, konnte ich ihm nur sagen, daß der Körper allerdings eine entfernte Aehnlichkeit mit meinen Parasiten aufweise, daß ich ihn aber niemals für einen Parasiten halten

würde, wenn er auch im Blut eines geimpften Tieres sich fände. Bei derselben Gelegenheit konnte Herr Hartmann im frischen Blut weder von gesunden Menschen noch vom Kaninchen irgend etwas zeigen, was wir mit Parasiten verwechselt hätten, so daß wir nach der Demonstration der Ansicht waren, Herr Hartmann habe sich von seinem Irrtum überzeugt."

Diese und ähnliche Ausführungen müssen den Eindruck erwecken, als hätten wir Gebilde, die von Siegel als seine „Cytorrhycten" anerkannt würden, gar nicht gesehen. Ein Streit über die bei den einzelnen Demonstrationen von den Beteiligten gewonnenen Eindrücke — die unseren weichen von denen Siegels beträchtlich ab — dürfte die Leser dieser Zeitschrift kaum interessieren. Wir legen aber Wert darauf, folgendes festzustellen: Herr Siegel hat uns, und zwar sowohl Mühlens wie Hartmann, seine „Cytorrhycten" wiederholt im gefärbten und ungefärbten Präparat demonstriert, unter andern auch in einem Präparat, das von einem durch Mühlens geimpften Kaninchen herstammte. Wir haben — und zwar Mühlens sowohl wie Hartmann —, um unserer Sache ganz sicher zu sein, Herrn Siegel auch gelegentlich der Zusammenkünfte Gebilde im Blut geimpfter Tiere eingestellt, die dann von Siegel als seine Parasiten anerkannt wurden. Wir haben endlich ein von Herrn Siegel uns freundlichst überlassenes Präparat, sowie ein zweites Präparat, welches in Gegenwart von Mühlens in Siegels Laboratorium angefertigt und von Siegel selbst gefärbt war, jederzeit als Testpräparate zur Hand gehabt. Hierauf können wir es getrost dem Urteil der Leser überlassen, ob wir berechtigt waren zu dem in unserer Arbeit (p. 52) aufgestellten Satze: „Wir waren somit sicher, seine Körperchen zu kennen."

Durch die neueste Publikation Siegels werden im übrigen unsere Ausführungen über seine Parasiten nicht im geringsten berührt; nach wie vor halten wir an der Ansicht fest, daß für die Siegelschen „Cytorrhycten" der Beweis der Protozoeennatur nicht erbracht ist.

Wir halten auf Grund unserer sorgfältigen Untersuchungen die Behauptung aufrecht, daß von den Siegelschen „Cytorrhycten" nicht zu unterscheidende Gebilde auch im normalen Blut sich finden.

Wir bleiben bei unserer Auffassung, daß es sich dabei um Zerfallsprodukte von Körperzellen, namentlich von roten Blutkörperchen handelt.

Eine Entgegnung auf die Pallida-Kritik von Herrn Saling.

Von Dr. Max Wolff (Bromberg),
Wissenschaftl.-technischer Hilfsarbeiter am Kaiser-Wilhelm-Institut für Landwirtschaft.

In Heft 7 und 8, Bd. XLI und Heft 1 und 2, Bd. XLII dieses Centralblattes hat Saling eine Kritik an Schaudinns Entdeckung der *Spirochaete pallida* geübt. Als Zoologe, der die Protozoenliteratur bisher gewissenhaft verfolgt hat, würde ich mir wohl zum mindesten ein Urteil über die Ausführungen von Herrn Saling erlauben. Da es aber genug gute Beobachter und Kenner der Spirochäten, insbesondere der *Spirochaete pallida* Schaudinn, gibt, würde man wohl sagen, daß ich die Abfertigung dieser Kritik getrost mir ersparen oder einem Protistenforscher es überlassen könnte, bei Gelegenheit das nötige zu bemerken.

Nun liegt die Sache aber so, daß Saling im Laufe seiner Kritik auf ein Gebiet übergreift, das einem Teil seines Leserkreises vielleicht etwas ferner liegen dürfte. Daß er endlich unter anderem sich auf Arbeiten von mir bezieht, sowie auf Resultate, die sich bei Imprägnierung eines Gewebes mit der Bielschowsky-Methode ergeben, deren ich mich seit Jahren bei meinen Arbeiten bediene — das nötigt mich denn doch, als Histologe die Ausführungen Salings etwas näher zu betrachten.

Saling gibt von vornherein zu, daß die Luesforschung unter dem Zeichen der *Spirochaete pallida* steht. Aber er bedauert es sichtlich, daß man die „trüben Erfahrungen“, die man mit dem Lustgartenschen Bacillus gemacht hatte, vergessend, ohne Skepsis, „voll hoffnungsfreudiger Zuversicht in einer Menge kleiner Berichte die Schaudinnschen Befunde“ bestätigte.

Saling nennt die Befunde „recht spärlich“, die von den Versuchen erzielt worden seien, die *Spirochaete pallida* von nichtpathogenen Spirochäten zu unterscheiden. Er führt aus der tierärztlichen und ärztlichen Literatur Aeußerungen verschiedener Autoren an, die darin übereinstimmen, daß jene Herrn die *Spirochaete pallida* nicht von der *refringens* und verwandten Formen zu unterscheiden vermochten. „Die Berichte der übrigen Autoren ändern hieran nichts, denn die *Pallida* wird geschildert als lang und kurz, dick oder dünn, mit steilen und mit flachen Windungen, mit zugespitztem oder abgerundetem, ja knopfförmigem Ende, so daß man sich fragt: Was ist denn nun eigentlich das Erkennungsmerkmal?“

Saling erklärt ferner, daß es ihm unverständlich sei, wie Schaudinn „— nachdem er die *Pallida* als Protozoon betrachtet wissen will — noch bestrebt sein kann, für sie eine fest umschriebene Form ausfindig zu machen, während doch bei den Flagellaten eine ausgesprochene Polymorphie vorhanden ist. Daß aber die Spirochäten nicht zu den Protozoen gehören, sondern echte Bakterien sind, wie schon seit Ehrenberg allgemein angenommen wird, haben Bütschli, Koch, Thesing und Zettnow hinlänglich nachgewiesen. Es hat sich nun hier seit einem Jahre eine große Verwirrung herausgebildet.“ Herr Saling meint nämlich, Schaudinn habe zu Unrecht, formal wie sachlich, auf Grund der „äußeren Aehnlichkeit eines Entwickelungsstadiums

des Laveranschen *Leucocytozoon Ziemanni* „völlig andere Gebilde als gleichwertig in Beziehung" zu echten Protozoen gebracht. „Diese Verwirrung wird durch eine kürzlich im III. Bande des „Handbuches für Tropenkrankheiten" erschienene Arbeit Lühes nicht geringer. Zunächst führt Lühe für das *Leucocytozoen* die alte Benennung Laverans — wahrscheinlich auf die Thesingsche Richtigstellung hin — wieder ein, weil Schaudinns Bezeichnung „Spirochäte" kein systematischer, sondern nur ein morphologischer Begriff sei, bemüht sich aber dennoch, die Verbindung zwischen Protozoen und Spirochäten aufrecht zu erhalten, indem er sagt: „An *Leucocytozoon*, in dessen Entwickelung wir bereits ein Spirochätenstadium (!) kennen gelernt haben, lassen sich in Rücksicht hierauf (sic!) die sogenannten Spirochäten zur Zeit am besten anschließen!" Das Gruseln, das bei „sic!" und „!" den Leser bei solcher ketzerischer Zoologen-Litanei gewiß schon kräftig überkam, wird zum Entsetzen gesteigert durch Salings pathetischen Ausruf: „Soll etwa damit darauf vorbereitet werden, daß die „Syphilisspirochäten" nur noch als besondere Entwickelungsstadien eines noch unbekannten Erregers aufrecht zu erhalten sind?" Wir werden weiter unten Herrn Saling klar zu machen suchen, daß die Protistenkunde auf solche Monstra nicht erst vorbereitet zu werden braucht, und daß wir sie gerade durch die Arbeiten Schaudinns und nach ihm vieler anderer Forscher, die Saling freilich ebenso inkompetent erscheinen mögen, mit genügender Sicherheit kennen gelernt haben. Des weiteren hält Saling durch die Ausführungen des Dr. Thesing „die Unmöglichkeit der Unterscheidung der *Pallida* von anderen Spirochäten" für bewiesen!

Im speziellen meint Saling, es sei bedenklich, daß sich die *Pallida* „wohl immer zahlreich auf Ausstrichen von Exanthemen, Lippensklerosen, Genitalpapeln etc. vorfand, daß es aber bei der Ausstrichuntersuchung innerer Organe — wie Leber, Milz, Niere, Nebenniere — gar nicht oder nur unter ganz bestimmten Umständen" gelungen sei, „einige wenige Exemplare" zu entdecken. Es soll aber nach Salings Meinung kein Grund zur Annahme vorhanden sein, daß sich ein Parasit in inneren Organen anders verhalten könne als auf Hautausstrichen. Und zwar beruft sich dabei Saling auf die Levaditischen Untersuchungen über die Spirochäten des Haushuhns, die sich im Ausstrich wie auf Gewebsschnitten gleich gut mit Anilinfarben darstellen lassen. „Warum soll es bei der *Pallida* anders sein als bei allen anderen Bakterien und Protozoen?" Ferner meint Saling, daß, „da ganz sicher der Lueserreger im Blut zirkuliere", der äußerst selten gelungene Nachweis der *Pallida* im Blute befremden müsse, ja „daß der Verdacht nahe liege, daß sie es in diesem Falle mit Kunstprodukten, wie Fibringerinnsel, zu tun hatten". Herr Saling hält übrigens schon deshalb den *Pallida*-Befund in Hautpapeln und auf Ausstrichen innerer Organe für nicht beweisend, weil man, „solange eine genaue Spezifizierung nicht möglich war", alle die Fälle hätte ausschalten müssen, „wo eine Vergesellschaftung der *Pallida* mit anderen Spirochäten vorliegen konnte". Die Speciesunterscheidungsmerkmale hält Saling für zu unsicher, und auch die gründlichste Säuberung der Hautpapeln für nicht genügend, um die Möglichkeit einer Vergesellschaftung auszuschließen, da sicher die Fäulnisspirochäten, die Orte pathologischer Gewebsveränderung bevorzugend, von dort auch in tiefere Lagen und selbst bis in die Lymphdrüsen gelangen können.

Man erfährt auch von Saling, daß es „für den Nachweis des Lueserregers unbedingtes Erfordernis ist, möglichst lebensfrisches, nicht ander-

weitig erkranktes Material zu verwenden". „Daß aber die Spirochäten in frischen, sicher infektiösen Organen fehlen, beweist unter anderem z. B. der vollständig negative Befund bei den Untersuchungen, die Neisser an inneren Affenorganen vornahm, die durch Impfung sich als infektiös erwiesen hatten". Das ist die Meinung von Saling, aber er erklärt nicht näher, warum er dem Faktum, daß Neisser etwas nicht gesehen hat, so entscheidende Beobachtung beimißt.

Ferner weist Saling Zoologen und Pathologen darauf hin[1]), daß in allerhand Ausstrichen „allerdünnste und verschieden gewundene Formen erhalten werden" können, die Schraubenwindungen zeigen und damit nach Salings Meinung eine Verwechselung mit Spirochäte zulassen. Saling schließt sich daher dem Russen Omelczenko an, der die *Spirochaete pallida* für nichts anderes als spiralgewundene Bindegewebsfasern ansieht. Es erweitert jedoch die Resultate dieses Forschers dahin, daß mehr noch als Bindegewebsfasern, Nervenendfibrillen es gewesen seien, die Schaudinn und anderen einen imaginären Lueserreger vorgetäuscht hätten.

Aber auch die Beobachtungen, die Schaudinn und andere an der lebenden Spirochäte gemacht haben, ficht Saling an, da es ihm nicht gelungen ist, die *Spirochaete pallida* von sogenannten Nervenendigungen und Bindegewebsfetzen zu unterscheiden. Die Beweglichkeit von *Spirochaete pallida* sei, wie Sobernheim und Tomasczewski zutreffend angegeben haben sollen, von der Molekularbewegung nicht zu unterscheiden, also ist von Schaudinn „der Nachweis der *Pallida* auch im lebenden Präparat" nicht einwandsfrei erbracht worden! Aber auch die Arbeiten von Bertarelli und Volpino sowie von Levaditi, Blaschko u. A., die durch Silberimprägnation die *Pallida* nachgewiesen haben, beruhen nach Saling auf einer höchst naiven und irrtümlichen Interpretation der Präparate. Saling scheint an einer späteren Stelle andeuten zu wollen, daß er in der modernen Nervenhistologie einigermaßen auf dem Laufenden sei. Dies mag hier vorläufig vorausgeschickt sein und soll erst später von unserer Seite objektiv untersucht werden. Jedenfalls zitiert Saling einen Satz von Levaditi, an dem keiner der später angeführten Neurologen etwas auszusetzen gehabt haben würde, des Inhaltes, daß er die Imprägnationsmethode, die Ramón y Cajal für Nervenfibrillen angegeben hat, mit einer geringen Abänderung erfolgreich zur Darstellung der Spirochäten angewandt habe und fährt entrüstet fort: „anstatt nun logischerweise etwa fortzufahren: „mit ihrer Hilfe konnte ich den Verlauf der Neurofibrillen studieren etc.", erklärt er ganz willkürlich: „grâce à elle, nous avons pu étudier l'histologie pathologique de l'hérédo-syphilis dans ses relations avec le *spirochaete pallida*". Also der Autor benutzt eine Methode zur Darstellung von feinsten Nervenendigungen und konstatiert Spirochäten!" Ach, so mancher Neurologe wird mit mir seufzen: Wenn es doch so wäre, wie Saling meint! Wir würden alle die mangelhafte Logik Levaditis

---

1) Und an solche richtet er sich doch im Centrabl. f. Bakt.; anders, als z. B. Neumann, der ganz berechtigterweise den in der Praxis stehenden Arzt, der in der Untersuchung solcher subtilsten Bildungen unmöglich vollkommen geschult sein kann und schnell die mikroskopische Diagnose zu stellen gezwungen ist, auf Verwechselungen aufmerksam macht, die nicht, wie Buschke und Fischer meinen, den „Erfahrendsten", aber immerhin auch einen sonst tüchtigen Mikroskopiker zu täuschen vermögen, besonders wenn er nicht häufig Gelegenheit hat, sich mit dem Studium winziger Protozoenformen zu befassen.

segnen. Aber leider, wie wieder hier schon vorweg bemerkt sein mag, hat nicht Saling, sondern Levaditi recht. Denn jeder Neurologe weiß und ist darauf gefaßt von vornherein, daß, wenn er Nervenendigungen haben will, er alles andere eher als diese bekommt. Er fragt dann auch, nur in anderem Sinne als Saling: „wo aber die Fibrillen bleiben?“ Und auch darüber kann man Saling beruhigen, daß weder der Aufenthalt in 96-proz. Alkohol bei rite vorgenommener Ueberführung, noch die schwächere Formalinlösung, noch die nach dem Urteil zahlreicher ungenannter Neurologen in diesem Sinne wirkende Silberlösung Schrumpfungen veranlassen, „die eine mehr oder minder deutliche spirale Verzerrung der Fibrillen erzeugen, die mit Spirochätenformen verwechselt werden könnte“. Die Richtigkeit der Aussage von Kolmer bestreite ich durchaus, wenigstens kann es sich niemals um Schrumpfungen handeln, die so täuschend gewesen wären, daß sie einen Schaudinn oder die genannten ausländischen Forscher hätten irreführen können.

Dem Einwand, daß Nervenendfasern und Bindegewebsfasern nie wie Spirochäten als Spiralen von erstens ziemlich kurzer (NB. wenn man sich vergegenwärtigt, in welcher Ausdehnung man bei geeigneter Schnittführung derartige Gebilde vorwiegend zu Gesicht bekommt), und zweitens doch immerhin ziemlich bestimmter Form erscheinen könnten, tritt Saling mit dem Hinweis auf die pericellulären Nervenendigungen in Haut und Drüsen entgegen. Saling meint, sich dabei auf die Arbeiten von Apáthy, Bethe, Bielschowsky, Botezat, Cajal, Dogiel, Ehrlich, Kölliker, Retzius und Smyrnow berufen zu können. Er ist der Ansicht, daß, wenn man „irgend eine Gewebspartie, nachdem in ihr die feinen, nach jeder Richtung verlaufenden Fibrillen zu spiraliger Schrumpfung gebracht wurden, mikrotomiert, auf sehr dünnen Schnitten schon sehr kurze Spiralen zu bemerken seien. Bedenke man ferner, daß in luetischen Geweben die Widerstandsfähigkeit der zarten Fibrillen infolge der pathologischen Gewebsveränderung auf ein Minimum herabgesetzt sei, so könne man sich nicht wundern, wenn durch Schrumpfmethoden und folgende Quellung in Aqua destillata die Ausläufer gewaltsam zersprengt werden und nun als zusammenhanglose kurze Fäserchen überall im Gewebe angetroffen wurden.“ Herr Saling glaubte sogar behaupten zu können, daß in einem 4 Tage post mortem sezierten Kaninchen „die feinen Nervenverästelungen“ in Leber und Pankreas kürzer und spiraliger zur Darstellung gekommen seien, als in nicht mazeriertem Gewebe, ja, daß der luetischen Mazeration in besonderem Grade die Fähigkeit zukommen könnte, die Fibrillen in Stücke zu zerlegen.

Ja, vor allem gehe aus der einmütigen Angabe sämtlicher Neurologen hervor, „daß zu einer vollständigen Tinktion die Verwendung lebensfrischen Materiales ganz unerläßlich sei“, ja, daß von vielen mit der vitalen Methode arbeitenden Forschern „damit nur ja die Tinktion eine durchgängige werde“, die Gewebsstücke längere Zeit im Thermostaten in der Farblösung gehalten werden müßten, zeige ganz klar, daß es sich in den sogenannten Spirochätepräparaten, deren „Spirochäten“ sich genau so launisch wie Bindegewebe gegenüber der Imprägnation verhielten, zweifellos nicht um protozoäre Gebilde handeln könne, sondern um völlig Gleichartiges, eben um Gewebsfibrillen. Also, Saling meint bewiesen zu haben, daß nichts dazu nötigt, die kleinen Silberspiralen als Parasiten anzusehen.

Höchst sonderbar findet Saling es, daß auf Levaditis Abbildungen trotz der Neurofibrillenmethode feinste Nervenfasern nicht beschrieben oder dargestellt werden, sondern nur Spirochäten. Er fragt: „sollte Levaditi etwa glauben, daß in luetischem Gewebe keine Nervenendigungen vorhanden sind?“ Kurz, „der allbekannte alte Autoritätsglaube scheint auch hier mal wieder ausschlaggebend gewirkt zu haben“. Die Beweisführung mit Hilfe der Silbermethode hält Saling für genau so verfehlt, wie die Verwendung nicht frischen Materials.

Saling sagt weiter: „wie schon aus den bisherigen Erörterungen hervorgeht, bin ich auf Grund eingehender Kontrollversuche zu dem Ergebnis gelangt, daß die vielbesprochenen Silberspirochäten gar keine Parasiten sind, sondern zum weitaus größten Teil feinzerstückelte, stückweis tingierte und spiralig geschrumpfte Nervenendfibrillen“.

Beschäftigen wir uns nun mit den von Saling veröffentlichten Photogrammen.

Was Saling über die Schwierigkeiten der Mikrophotographie zu berichten hat, ist nicht gerade neu. Er „lernte verstehen, warum die meisten Autoren bisher von einer photographischen Wiedergabe der Silberspirochäten Abstand genommen hatten“. Was Saling auf Tafel I, Fig. 1—6 abbildet, sind keine Nervenendfibrillen, das kann ich versichern. Ich kann ihm ferner versichern, um auch das hier gleich vorwegzunehmen, daß es — er zitiert ja Apáthy, Bethe, Bielschowsky und mich — Nerven-„End“-Fibrillen überhaupt nicht gibt, und daß er, wenn er Recht hätte, sich schmeicheln könnte, in seiner Arbeit so nebenbei das Problem der Neurologie gelöst zu haben. So aber kann es der von Saling verfochtenen Sache wenig nützen, den bekannten „objektiven“ Zeichner aus der Versenkung zu beschwören, der als Laie mit dem Wirrwarr der im mikroskopischen Bilde sich darstellenden Strukturen genau so wenig wie jeder andere Ungeübte anzufangen weiß und ebenso, wie dieser es tun würde, da Verbindungen sieht, wo in Wirklichkeit Ueberkreuzungen und Ueberlagerungen und Kontakte, aber keine Kontinuität vorliegen.

Salings Mikrophotogramme sind angesichts der Aufgabe, die sich ihr Autor gestellt hat, gerade herausgesagt, absolut unzureichend.

Saling gibt nun weiter an, die Silberspirochäten auch in zweifellos nichtluetischem Material, besonders vom gesunden Affen, Bären, Schwein, Kaninchen und Meerschweinchen gefunden zu haben. „All diese Organe wurden genau nach Levaditis Vorschrift behandelt. Am besten zeigten sich die „Silberspirochäten“ in solchem Material, das bereits lange Zeit in Alkohol gelegen hatte.“ „Sehr gute Resultate erzielte ich auch bei Kaninchen, die erst 3 resp. 4 Tage nach dem Exitus zur Sektion gelangten.“ Und das alles nennt Saling „genau nach Levaditis Vorschrift“!! „Auch eine künstliche Mazeration durch Liegenlassen in der Leiche oder Anwendung des Sihlerschen Mazerationsgemisches ist für die Silberimprägnierung der Gewebe sehr vorteilhaft.“ D. h. für die Salingsche!! „Dagegen hatte ich mancherlei Schwierigkeiten bei der Behandlung frisch konservierten Materials, wo einerseits die Schrumpfung zu wünschen übrig ließ, andererseits durch die Festigkeit des Gewebes dem Eindringen des Silbers erheblicher Widerstand entgegengesetzt zu werden schien . .“ (sic!).

Was Saling über die täuschende Aehnlichkeit von Zellgrenzen etc. berichtet, erspare ich dem Leser. Dagegen möchte ich ihm nicht vorenthalten, wie Saling sich um einen recht wichtigen Punkt herumdrückt. Er

gibt zu, daß die Suche der Autoren (mit Ausnahme Reuters) nach Silberspirochäten bei tertiärer Lues ein negatives Resultat gehabt hat. Auch von Bertarellis und Volpinos Vermutung, daß es sich um „gründlich veränderte Ruheformen" handeln könne, nimmt er Kenntnis. Dafür klammert er sich mit Verzweiflung an ihre Hypothese, daß sich vielleicht „kleine runde, bald schwarze, bald gelbe Körperchen" als solche erweisen könnten. Das sind „offenbar Silberniederschläge"! Besonders, da sie sich nach merkurieller Behandlung finden und Saling nach Quecksilberchloridfixation meist Körnchenreihen an Stelle von „Nerven" erhielt, ist ihm das Problem der Zerfallsformen der Spirochäten perlucidior vitro: Die Quecksilbersalze „alterieren" Nervenendfibrillen und andere faserige Elemente derart, daß sie für eine später erfolgende, durchgängige Silberimprägnierung ungeeignet werden.

Ebenso, oder noch einfacher erklärt sich für Saling der Nachweis von Silberspirochäten in der Haut. Daß sie dort parallel den Bindegewebsfasern liegen, hängt nicht, wie Blaschko will, mit der Verteilung des geringsten Widerstandes beim Vorwärtsdringen der Spirochäten zusammen, sondern mit dem Verlauf der Nerven. Und der Blaschkosche Nachweis in der Haut ist in Salings Augen von vornherein verfehlt. Die Silbermethode weist eben komplizierte Nervenverästelung in der Haut spielend nach!

Und so steht es mit den übrigen, den inneren Organen. Nervenfibrillen über Nervenfibrillen. In Lunge, Leber, Niere und Nebenniere. Alles, was jemals krumm und schwarz gezeichnet ist, ist eben Nervenfibrille und zeigt, was man von dort gemachten Spirochätenbefunden zu halten hat. Und wo noch keine guten Nervenfibrillen beschrieben wurden — zwischen Fasern und Fibrillen unterscheidet Saling überhaupt nicht, und so kann er die ganze schöne Methylenblauliteratur für seine Beweisführung verwerten — da werden sie eben von Saling entdeckt und photographiert. Die Neurologen, die hoffentlich die Tafeln von Saling beachten, werden staunen, wie merkwürdig in der Roseolahaut die Nervenendigung sich verhält, wie ganz anders als in der normalen. Als ob die ganze Syphilis eine nervöse Krankheit wäre!

Wenn Saling recht hätte — seine Mitteilungen würden uns mit epochemachenden Entdeckungen bekannt machen. Kein Mensch hat bisher solche Nervenendigungen gesehen. Und daß es Nerven sind, beweist der Autor mit seiner Angabe, daß sie mit einer Nervenfibrillenmethode dargestellt sind! Bedenklich ist freilich, was Saling von intrazellulären Fibrillen aus dem Rückenmark des Hundes nach einer Arbeit von London darstellt. Ich kannte diese Arbeit bisher noch nicht, ich muß aber sagen, daß die schlechtesten Cajal-Präparate immer noch bessere Bilder geben, als die Londonschen Abbildungen zeigen.

(Schluß folgt.)

Kritische Betrachtungen über die sogenannte „Syphilisspirochäte".

I. Die „Silberspirochäte".

[Aus dem Zool. Institute der Königl. Universität Berlin (Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Fr. E. Schulze).]

Von Dr. **Theodor Saling**, Berlin.

Mit 12 Figuren.

(Fortsetzung.)

Wer sich nun etwas mit der Nervatur der Cornea vertraut gemacht hat — ich verweise hier auf die Arbeiten von Kölliker (27), Zelinka (54) und Klein (26) — der weiß, wie es gerade hier eine Eigentümlichkeit der feinsten Nervenfibrillen ist, sich rechtwinklig resp. rautenförmig zu kreuzen. Meine Fig. 7, die dem Werke Zelinkas entnommen ist, mag diese Verhältnisse illustrieren. Zelinka sagt von diesem Nervenplexus in der Cornea: „Die Messung ergab für die stärksten Fasern des unterhalb liegenden groben Stromaplexus 6,6 μ, für die von diesen abzweigenden Primitivfibrillenbündel 3—1 μ, aus welchen Bündeln endlich die Primitivfibrillen selbst unmeßbar fein hervorgehen und durch weitere Strecken in mancherlei Windungen [!] und Winkeln [!] ziehen." Im feinfaserigen Plexus gewinnen „zierliche, scharfwinkelige Maschen, meist von 90°", die Oberhand. Also in Größe und Lagerung stimmen die Bertarellischen Silberspiralen mit diesen feinsten Corneanerven überein; der einzige Unterschied besteht nur noch darin, daß die Bertarellischen Spiralen etwas mehr zusammengeschnurrt sind und ohne Zusammenhang erscheinen. Das läßt sich aber leicht auf Rechnung der stattgehabten Mazeration setzen, wie in diesem Sinne unternommene Experimente lehren.



Fig. 7. Grob- und feinfaseriger Nervenplexus in der Cornea von *Gobius* (nach Zelinka).

Für die Nervennatur der Bertarellischen Spiralen spricht ferner der negative Befund in der Linse! Meines Wissens sind auch noch keine Nervenfibrillen in ihr beobachtet worden[1]). Wäre alles dies

1) Anmerkung bei der Korrektur: Soeben hat Bab (D. med. Wochenschr. 1906. No. 48) seine „Silberspirochäten"befunde in den Augen mazerierter Neugeborener publiziert. In dieser Arbeit ist wieder einmal gezeigt worden, daß, falls die Mazeration eine hinreichende ist, der Reichtum an sogenannten „Silberspirochäten" nichts zu wünschen übrig läßt. Wenn Bab glauben machen will, daß die untersuchten Augen histologisch intakt gewesen seien, so erscheint eine solche Behauptung schon im Hinblick auf die mitgeteilte Krankengeschichte sehr gewagt; da mir aber ein Teil des Babschen Untersuchungsmaterials zur Verfügung steht, so bestreite ich durchaus die Richtigkeit der Babschen Aeußerung. Noch nie wieder habe ich so schwer geschädigtes, matschiges Gewebe wie das Material von Bab (sein 1. Fall) erhalten. Auch

schon genügend, um die parasitäre Natur der Spiralen in das zweifelhafteste Licht zu setzen, so basiert doch der schlagendste Beweis für die Identität der Corneaspiralen mit Nervenfibrillen auf dem inzwischen von Schulze (45) ausgeführten Experimente. Schulze fand nämlich bei einer durch Straßenschmutz erzeugten Keratitis nach gründlicher Mazeration in der Cornea dieselben Spiralen! Was ist also notwendig zur Sichtbarmachung solcher zusammenhangloser Spiralen? — Ein krankhafter Prozeß und nachfolgende Mazeration! Letztere war auch bei Bertarellis Präparaten vorhanden, denn der Autor sagt; „In einigen Strecken der Läsion ist die Struktur der Hornhaut fast verschwunden". Daß aber immer ein gut Teil Glück für das Gelingen des Versuchs erforderlich ist — unter „Glück" verstehe ich das zufällige Treffen des richtigen Säuregrades und der rätselhaften Kontaktwirkungen, welche die Reduktion des Silbers bewirken — beweisen die zahlreichen negativen Ausfälle bei der luetischen Ueberimpfung. So erhielt selbst Bertarelli mit einigen Kaninchen „nicht das geringste Resultat". Auch Scherber, dem es gelungen war, bei 8 Tieren eine typische Keratitis hervorzurufen, erklärt: „In zahlreichen, von allen Bulbi angefertigten und nach der Methode von Levaditi gefärbten Schnittpräparaten konnte die *Spirochaete pallida* bisher nicht nachgewiesen werden." In gleichem Sinne äußerte sich Reis (36) gelegentlich der Demonstration der Präparate von Keratitis par. annul. congen. auf dem Ophthalmologenkongreß in Heidelberg: „Spirochäten ließen sich in der Hornhaut trotz Untersuchung zahlreicher Schnitte nicht nachweisen." Wenn sich „Silberspirochäten" in der Cornea finden, so kann man also wirklich von „Glück" reden.

Auch die Angabe Greeffs (22), daß die „Silberspirochäten" nur auf Flachschnitten der Cornea, nie aber in Hornhautquerschnitten dargestellt werden können, dürfte kaum zu gunsten eines „Parasitismus" dieser Silberspiralen sprechen!

In der dritten Arbeit (10) macht Bertarelli die Osteochondritis bei

---

nach Bab erwiesen sich Linse und Glaskörper immer spirochätenfrei. Wenn es nun dem Autor gelungen ist, — wie er sagt — in nicht syphilitischen Augen eine „schöne Darstellung der nervösen Apparate" zu erzielen (die Cajalsche Methode hatte sich demnach doch als Neurofibrillenmethode bewährt!), so bleibt es merkwürdig, weshalb ihm dieselbe Sichtbarmachung des nervösen Apparates nicht auch in Cornea und Iris luetischer Augen gelungen ist, die doch nach seiner Ansicht „intakt" waren. Bab erwähnt zwar, daß er auch in luetischen Augen (in der Chorioidea) nervöse Elemente gesehen habe, gibt aber gleich zu, daß diese „gröber" und „plumper" als die sogenannten „Silberspirochäten" gewesen seien. Wenn der Autor aber seine „gröberen" und „plumperen" Nervenfibrillen (Fibrillenbündel?) für identisch hält mit den feinsten Primitivfibrillen in der Cornea, so irrt er durchaus, denn wie ihn ein gründliches Studium der diesbezüglichen Spezialliteratur belehren könnte, sind wirkliche Kenner in dieser histologischen Frage ganz anderer Meinung! Bei Herstellung der sogenannten „Kontrollpräparate" hat Bab nicht allzuviel Kritik walten lassen, sonst wäre er wohl bemüht gewesen, bei der Untersuchung nicht luetischer Augen — wie es Schulze getan hat — dem luetischen Krankheitsbild möglichst ähnliche Vorbedingungen (durch Einleiten eines Krankheitsprozesses und Mazeration) zu schaffen. Da es nun Bab bereits gelungen ist, die Spirochäten klumpenweise zur Darstellung zu bringen, so müßte es ihm ja auch ein leichtes sein, diese „Spirochätenklumpen" auch einmal mit wirklichen Farbstoffen zu tingieren! Ist das gelungen oder nicht? Der Autor schweigt leider darüber ganz! Schließlich ist es zweifelhaft, ob es sich in dem zweiten mitgeteilten Falle wirklich um Lues gehandelt hat! Bab scheint vielmehr ein Exempel geliefert zu haben, das die Zahl jener Fälle (s. unten), in denen die „Lues-Silberspirochäte" auch im nicht luetischen Gewebe dargestellt wurde, vermehren hilft.

Neugeborenen zum Gegenstande seiner Untersuchungen. Sie sind dadurch interessant, daß uns hier Formen der „*Pallida*“ vorgeführt werden, die selbst der wohlmeinendste Beurteiler nicht mehr als spirochätenähnlich anerkennen kann. Die nur noch stellenweis vorhandene typische „*Pallida*“ von gleichmäßig gewundenem, fast gedrechseltem Aussehen verschwindet hier zu Gunsten anderer Formen. „Nicht selten ist die Spirochäte dann auch derart gerade, daß man wohl auf den ersten Blick glauben muß, Opfer eines Irrtums geworden zu sein.“ Wenn nun ferner der Autor meint, es falle jeder Zweifel, sobald man „die verschiedensten Uebergangsformen von der typischen spiralförmigen bis zur geradlinigen“ Spirochäte beobachte, so kann ich nur entgegnen, daß dadurch Zweifel erst wachgerufen werden, denn die Uebergänge scheinen mir anzudeuten, daß sich alle Formen durch die Annahme einer mehr oder weniger vorgeschrittenen Deformation auf die geradlinigen zurückführen lassen; mit anderen Worten: Die „geradlinigen *Pallidae*“ sind noch gestreckt verlaufende, die „spiralförmigen“ stark zusammengeschnurrte Nervenfibrillen. Denn es ist bekannt, daß zahlreiche marklose Nervenfäserchen einerseits oft in den Lamellenkörperchen des Periosts endigen, andererseits durch die Haversschen Kanäle in das Knochenmark eindringen und hier die Gefäße innervieren. Für die Nervennatur der Spiralen sprechen ferner die sehr langen oder auch zerstückelten Formen mit knopfförmigem Ende, sowie der parallele Verlauf zwischen den Bindegewebsbündeln des Periosts. Im Periost werden die Spirochäten auch „in typischer Weise fast geradlinig oder vollauf geradlinig“! Das ist ja sonderbar! Ich glaubte immer, in der Erscheinungen und Deutungen Flucht habe sich doch ein einziger ruhender Punkt bewahrt, daß nämlich die gedrechselt korkzieherartige Gestalt das „Typische für die *Pallida*“ sei. Nun ist „geradlinig“ auch typisch geworden, und wenn es die Entdecker Bertarelli und Schaudinn behaupten, so muß es doch wahr sein! Aber man wird sich nicht wundern dürfen, wenn nunmehr auch gerade Gebilde als „echte *Pallidae*“ demonstriert werden, und es ist damit tatsächlich schon der Anfang gemacht worden, denn Benda zeigte in der Berliner Med. Gesellschaft „*Pallidae*“ aus einer Arterienlues. Der Bericht (6) lautet hierüber: „Ganz auffällig war auch die große Zahl von sehr stark gestreckten Formen.“

So viel dürfte also sicher sein, daß man nicht einmal aus den Publikationen des Entdeckers der Silberspirochäte ein sicheres Bild von der „*Pallida*“ gewinnen kann, und so geht es auch mit der ganzen ungeheuren Kette der weiteren Veröffentlichungen. Erwähnenswert scheint mir in dieser Hinsicht nur noch ein Ausspruch von Levaditi (29): „Remarquable est la variété de forme des spirochètes. A côté d'éléments spirilliens très longs, à ondulations régulières, il y en a d'autres dont les dimensions sont réduites, les ondulations plus serrées, et qui se terminent souvent par un renflement plus ou moins accentué.“ Die Spirochätenanhänger, die sich auf die starre, korkzieherartige Gestalt der „*Pallida*“ versteifen, sind also sehr im Irrtum. Allmählich durchdrungen von der Einsicht, daß sich die korkzieherartige Gestalt nicht mehr als Kriterium der „*Pallida*“ verwenden lasse, wendet man sich in neuerer Zeit dem Pleomorphismus zu, der von mir bereits im vorigen Artikel als durchaus notwendiges Postulat hingestellt wurde, sofern man es überhaupt mit einem Flagellaten zu

tun haben wollte. Mit dem Momente des Zugeständnisses einer Formveränderung der „*Pallida*" hört aber auch die von Schaudinn künstlich geschaffene Unterscheidung einer „*Pallida*" und einer „*Refringens*" auf, und der Schaudinnsche „Lueserreger" ist damit endgültig abgetan.

Auf den Formenunterschied der einzelnen „*Pallidae*" muß ich noch mit einigen Worten eingehen. Wie erwähnt, hatte ich Gelegenheit, verschiedene Originalpräparate von „Silberpallidae" zu durchmustern. Dabei konnte ich neben der oft weitgehenden Gewebslockerung immer eine Verschiedenheit der „Spirochäten" wahrnehmen, insofern als sie hinsichtlich ihrer Form, Dicke, Länge und Verteilung in der Nebenniere z. B. anders aussahen als in Leber, Herzmuskel oder Cornea. Besonders auffallend ist dieser Unterschied zwischen den „*Pallidae*" in den inneren Organen und denen in der Cornea. Sodann ist die Verteilung der „Parasiten" durchaus keine regellose, wie man annehmen sollte — sie ist es höchstens in fast völlig zerfallenen Organen — sondern sie liegen z. B. in der Haut nur in bestimmten Schichten zahlreich, in den drüsigen Organen umspinnen sie die sekretorischen Zellen und dringen in die Glandularepithelien ein, die Blutgefäßwandungen um- und durchflechten sie förmlich, in den Bindegewebsbündeln ziehen sie meist parallel, in der Cornea kreuzen sie sich rechtwinklig! Ist das Parasitenart? Wie erklären sich die Spirochätenanhänger diese auffallende Lagerung? Wie deuten sie ferner die Erscheinung, daß die „*Pallidae*" nur in den allerseltensten Fällen spitz auslaufende Enden besitzen, im Gegenteil stumpf endigen, ja knopfförmige Verdickungen resp. Schleifen an den Enden und in der Mitte tragen? All diese schwerwiegenden Fragen finden aber mit einem Schlage ihre Erledigung, wenn man die mit einer Nervenfärbungsmethode sichtbar gemachten Spiralen eben als Nervenfibrillen betrachtet, denn ein Jeder weiß, daß diese nicht nur in der Cornea am zartesten sind, sondern auch ein jedes Organ in charakteristischer Weise durchsetzen, beim Durchschneiden resp. Durchreißen meist stumpf endigen, auf ihrem Verlaufe Varikositäten und am Ende die Endknöpfchen resp. Endschleifen erkennen lassen.

Nachdem ich somit klargelegt habe, daß eine Beschreibung und Spezifizierung der „Silberpallida" von seiten ihrer Anhänger in höchst unzureichender Weise gegeben worden ist, erörtere ich als nächste Frage: Wo wurde die „Silberspirochäte" beobachtet, und wie stellt sich zu diesen Befunden meine Behauptung, daß sie in erster Linie mit Neurofibrillen identisch ist?

In meiner vorigen Arbeit habe ich schon in zwei besonderen Abschnitten die damals vorliegenden Befunde in Hautgewebe und inneren Organen behandelt. Seitdem sind „Spirochäten" auch noch an anderen Stellen bemerkt worden, so daß nunmehr mit Ausnahme von Gehirn und Rückenmark, wo aus naheliegenden Gründen der Nachweis des „Parasiten" ängstlich vermieden wird, keine Partie des menschlichen Körpers bekannt ist, in der sie nicht nachgewiesen worden wären.

Ein besonderes Interesse erheischte der Nachweis der Spirochäten im Knochenmark (Bertarelli [10]); ich habe meine Ansicht darüber schon kundgegeben.

Am wunderlichsten mutet jedenfalls der Befund von „*Pallidae*" im Nervengewebe an. Schlimpert (42) äußert sich hierüber: „Hier glückte es auch, die Parasiten in großer Masse in mehreren zum Plexus solaris gehörigen Nervenstämmen äußerst zahlreich im Endo- und Peri-

neurium, die Nervenfasern umspinnend, vorzufinden. Dasselbe Bild bot sich bei der Untersuchung mehrerer quer und längs getroffener Halsnerven.“ Da Ehrmann (17) einem ähnlichen Befunde in den Nerven des Praeputiums eine ganze Abhandlung widmet, der auch erfreulicherweise eine Abbildung beigegeben wurde, so möchte ich Ehrmanns Mitteilung in den Mittelpunkt der Betrachtung stellen. Verf. zeichnet ein Nervenbündel, das der Länge nach von mehreren, ziemlich glatten (die Mazeration ist also noch nicht weit vorgeschritten) Nervenfasern durchzogen wird. „*Pallidae*“ wurden nun gefunden außer in dem die Nervenscheide umgebenden Bindegewebe auch im Innern des Perineuriums, in dem lymphatischen Raume zwischen Nervenbündel und Perineurium, sowie im Innern des Nerven selbst zwischen Nervenfaser und Neurilemm. Der Autor meint hierzu, es sei „klar, daß die Spirochäten längs der Lymphspalten des Bindegewebes an die Scheide und von da in die Nervenscheide gelangt sind“, und es sei „mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit schon jetzt anzunehmen, daß die Spirochäten unter solchen Umständen in den Nerven ziemlich weit zentralwärts gelangen, und so wäre es nicht unmöglich, daß sie wie andere Krankheitserreger (Lyssa, Tetanus) langsam längs der Nervenbahnen aszendieren und später zu den parasyphilitischen Nervenerkrankungen, namentlich der Tabes, führen“.

Die Folgerungen, die hier auf einem gar nicht sichergestellten Befund aufgebaut werden, sind also schon weitgehend genug. Doch leider ist die Prämisse falsch, denn die „Spirochäten“ sind auch hier keine Parasiten, sondern höchstwahrscheinlich feinste Nervenfibrillen. Nämlich auf der Zeichnung Ehrmanns fehlen die feinen Endverzweigungen der Nerven, die einerseits vorhanden sein müssen, da gerade das Praeputium äußerst nervenreich ist, andererseits aber hätten sichtbar werden sollen, da ja die Tinktion in erster Linie für feine Nervenfäserchen die typische ist. Mithin bleiben nur zwei Eventualitäten: Entweder nimmt man an, im Ehrmannschen Präparat seien die Nervenendigungen nicht tingiert, dann ist dieses nicht beweiskräftig, denn mittelst der Cajalschen Silberfärbung müssen vor allen Dingen die Endausläufer erscheinen; oder die „Spirochäten“ sind, da keine sonstigen Endfibrillen auf dem Präparat zu sehen sind, den Nervenendfasern gleich zu erachten, wenn sie auch — infolge Krankheit und Mazeration — stark deformiert und zerstückelt sind.

Auch mit Rücksicht auf die Anordnung der Spiralen ist ihre Deutung als „Nervenfibrillen“ sehr plausibel. Bekanntlich wird ja außer dem umliegenden Bindegewebe auch das Perineurium von feinsten Neurofibrillen durchzogen. Was aber die „Spirochäten“ anbelangt, die Ehrmann innerhalb des Nervenbündels zwischen Neurilemm und Nervenfaser, und zwar rechtwinklig zu dieser, zeichnet, so handelt es sich höchstwahrscheinlich dabei um die sehr zarten, lateralen Zweige, die von den Nervenfasern rechtwinklig abbiegen.

Was endlich die Anwesenheit einiger weniger „Spirochäten“ in dem lymphatischen Raume zwischen Nervenbündel und Perineurium betrifft, so bin ich der Ansicht, daß diese Nervenfibrillenfragmente auf künstlichem Wege dorthin gelangt sind, wie ja überhaupt der ganze Spaltraum künstlich — sei es durch Gewebslockerung oder unvorsichtige Einbettung — verbreitert erscheint. Wer also an der von Ehrmann gegebenen Deutung der Silberspiralen in den Nervenbündeln des Praeputiums festhält, setzt sich einem großen Risiko aus, denn die für feinste Nerven-

fibrillen typische Lagerung der Spiralen spricht doch wohl nicht zu Gunsten einer parasitären Natur.

Da ich glaube, die Nervennatur der Silberspiralen am besten erweisen zu können, wenn ich auf die in den einzelnen Organen gemachten Befunde speziell eingehe, so möchte ich noch einen weiteren Fall demonstrieren. Die drüsigen Organe, wie Leber, Niere, Milz habe ich schon in meiner früheren Kritik berücksichtigt. Sie sind — wie z. B. Wolff (53) an der Leber gezeigt hat — auch durchzogen von einem Netz reichverästelter Bindegewebsfasern; es ist nicht unmöglich, daß auch solche Fasern an der Zerstückelung resp. diskontinuierlichen Färbung und an der spiraligen Deformierung teilnehmen. Ein besonderes Gewicht will man dem „Spirochäten"aufenthalt innerhalb der Glandularepithelien beilegen. Bandi und Simonelli wollen hierin einen Zellparasitismus erblicken und huldigen der sonderbaren Anschauung, daß die „Spirochäten" aktiv in die Zellen eindringen, um sich gleichzeitig zu schützen „gegen die vertilgende Tätigkeit der phagocytischen Elemente"! Es leuchtet ein, welch eines Aufwandes von erkünstelten Erklärungen es bedarf, um das Naheliegendste nicht gelten zu lassen. Und wie zahlreich sind doch in den Glandularepithelien die intracellulären Nervenfasern! (Forts. folgt.)

Ueber die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

II. Bericht.

Von Privatdozent Dr. **E. Bertarelli**, Assistent.

Mit 1 Figur.

Am 16. März d. J. habe ich der R. Accademia di Medicina in Turin [1] meine ersten Resultate über die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen mitgeteilt. Damals habe ich dargelegt, wie es mir nach Einführung syphilitischen Materials (primitives Syphilom) in die Augenvorkammer gelungen ist, 40 Tage nachher (in dem Berichte ist infolge eines Druckfehlers 31. Januar anstatt 3. Januar angegeben) eine typische Hornhautverletzung zu erhalten — auf deren histologische Merkmale ich später zurückkommen werde — und das Vorhandensein außerordentlich zahlreicher Spirochäten in der Hornhaut konstatieren zu können. In dem kurzen vorläufigen Berichte gab ich in großen Zügen eine Beschreibung der beobachteten Vorgänge und Verletzungen und wandte mein besonderes Augenmerk dem Befund der Spirochäten zu und ganz besonders einigen besonderen, bei ihnen zum Ausdruck kommenden Merkmalen, die ich für eine wahrscheinliche Vermehrung durch Längsspaltung ausgab.

Beim Korrigieren der Druckbogen fügte ich dann noch hinzu, daß es mir gelungen ist, in einem zweiten Kaninchen denselben Vorgang zu erhalten und denselben Spirochätenbefund in der verletzten Hornhaut.

1) Bertarelli, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XLI. 1906.

Heute sind das hierin angesammelte Material und die beobachteten Vorgänge zahlreich genug, um in einzelnen Teilen dem seiner Natur nach kurzen und gedrängten Bericht vervollständigen zu können, und so fasse ich denn die bis heute experimentell angesammelten Tatsachen über die Uebertragbarkeit der Syphilis auf das Kaninchen zusammen.

Schulze[1]) und Siegel[2]) waren die ersten, die behaupteten, bei Uebertragung der Syphilis auf das Kaninchen Erfolge erzielt zu haben. Sie haben ihren Angaben zufolge in der mit syphilitischem Virus injizierten Iris die Bildung von Knötchen erhalten, die in 3 Wochen ihren Höhepunkt erreichten und dann verschwanden.

Abgesehen von den lokalen Erscheinungen, hätten die Kaninchen dann auch allgemeine Symptome aufgewiesen, so: Ausfall der Haare, Bildung von Rissen an den Lippen, Marasmus.

Ueber die Natur dieser Läsionen läßt sich nur schwer etwas Bestimmtes sagen. Allerdings hat Siegel behauptet, mit den Nieren seiner syphilisierten Kaninchen Affen infiziert zu haben, doch steigen ohne Zweifel leicht Bedenken auf über die wahre Natur der spezifischen Verletzung (und in Neisser so lebhaft, daß er den Läsionen der Kaninchen Siegels jeden syphilitischen Charakter nehmen will), wenn man die Arbeiten des vorgenannten Autors durchliest.

Schulze bestätigte in seinen Arbeiten zum großen Teile die Beobachtungen Siegels und will vor allem für die Gegenwart des *Cytorrhyctes luis* Siegels bei den Manifestationen des Kaninchens eintreten. Ich will mich hier nicht weiter über den ätiologischen Wert dieser Befunde auslassen, was ich jedoch sagen kann, ist, daß es mir trotz zahlreicher Präparate niemals gelungen ist, etwas aufzufinden, was in irgend einer Weise die Ansicht dieser Autoren über die ätiologische Bedeutung des *Cytorrhyctes* rechtfertigen könnte.

Ohne nun Prioritätsfragen erheben zu wollen, die doch schließlich wenig Wert haben, glaube ich behaupten zu können, daß der erste Nachweis einer wirklichen Transmission (in sehr weitem Sinne) der Syphilis auf das Kaninchen eben von mir erbracht worden ist, indem ich in der mit syphilitischem Virus injizierten Hornhaut eine Läsion mit typischem Ablauf und den Befund einer wahren Reinkultur der *Spirochaete pallida* erhielt.

Nur kurze Zeit nach meinem Berichte veröffentlichte Scherter[3]) eine kleine Arbeit über die Transmission der Syphilis aufs Kaninchen, in der er behauptet, bei den mit syphilitischem Virus inokulierten Kaninchen eine spezifische parenchymatöse Keratitis erhalten zu haben. Was jedoch das Vorhandensein der Spirochäte anbetrifft, so sind seine Befunde vollständig negativ. Und da heute, wenn auch noch nicht allen experimentellen Anforderungen entsprochen worden ist, doch kein Bakteriologe mehr existiert, der über die wirkliche ätiologische Bedeutung der *Spirochaete pallida* in Beziehung zur Syphilis Zweifel hat, so könnte man hinsichtlich der Fälle Scherters sagen, daß über die syphilitische Natur der erhaltenen Verletzungen kein genügender Nachweis erbracht worden ist.

---

1) Schulze, Med. Klinik. 1905. No. 79. Zieglers Beitr. 1906.
2) Siegel, Med. Klinik. 1905. Münch. med. Wochenschr. 1905.
3) Scherter, G., Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 24.

Allerdings versuchte dieser Forscher die Inokulation der infizierten Hornhaut in den Makaken, doch ist der erhaltene Befund, dem gegebenen Berichte nach zu urteilen, noch nicht derart, daß er ohne weiteres den Schluß auf syphilitischen Charakter der Verletzung gestattet.

Um so mehr muß für mich dann der negative Befund von Spirochäten von Bedeutung sein, als ich bei den verschiedenen zur Besprechung kommenden Fällen stets eine Fülle von Spirochäten in der syphilisierten Hornhaut feststellen konnte.

Bei meinen Versuchen, die Syphilis auf das Kaninchen zu übertragen, habe ich mir vor allem die Frage vorgelegt, ob es möglich ist, beim Kaninchen eine Verletzung zu erhalten, die vom Standpunkte des anatomisch pathologischen oder biologischen Verhaltens aus syphilitisch ist, oder ob es zum mindesten gelingt, im Kaninchen das Los der injizierten Spirochäten zu verfolgen.

Deshalb wählte ich sofort die Augenvorkammer und die Hornhaut, eben weil sie mehr als andere Teile es gestatten, den Lebensgang der injizierten Spirochäten zu verfolgen.

Nachdem ich festgestellt hatte, daß es sich um eine wahre syphilitische Augenläsion handelte, habe ich dann auch den Einfluß näher zu kennen versucht, den die Qualität des inokulierten Materials besonders vom Standpunkte des mehr oder weniger starken Vorhandenseins der Spirochäten auf die Ansteckung selbst haben konnte.

Danach habe ich auch, andere Injektionswege wählend, spezifische Verletzungen zu erzeugen versucht und vor allem danach getrachtet, festzustellen, ob in den syphilisierten Kaninchen eine Diffusion der Spirochäten bei gleichzeitigem Fehlen der Diffusion der Verletzung eintritt.

Zuletzt habe ich dann logische Serientransmissionsversuche beim Kaninchen angestellt und über die Empfänglichkeit und die Immunität der syphilisierten Kaninchen dem syphilitischen Virus gegenüber etwas herauszufinden getrachtet.

Im Verlaufe dieser Untersuchungen hat sich mir auch die Gelegenheit geboten, die Uebertragung der Syphilis auf die Hornhaut eines Meerschweinchens anzustellen, mehr jedoch aus biologischer Neugier als aus Interesse für eine eventuell positive Transmission.

Die bei meinen Versuchen erhaltenen Daten erlauben es schon, einige nicht unbedeutende Schlüsse zu ziehen, und eben deshalb hielt ich es für angebracht, sie, wenn auch diese Nachforschungen noch nicht für abgeschlossen gehalten werden können, in der Fassung zu geben, bis zu welcher sie vorgeschritten sind.

Transmission der Syphilis auf die Hornhaut des Kaninchens und Art der beobachteten Verletzungen.

Wie ich bereits in meinem vorläufigen Bericht bemerkt habe, berechtigt die mikroskopische Prüfung zu der Behauptung, daß es möglich ist, in der Hornhaut des Kaninchens eine typische Läsion zu erzeugen, die äußerst reich ist an Spirochäten, die die typischen Merkmale der *Spirochaete pallida* Schaudinns aufweisen.

Bevor ich aber zu Betrachtungen über die erhaltenen Resultate schreite, will ich das Protokoll der bis heute positiv ausgefallenen Proben wiedergeben und dann die negativen kurz zusammenstellen.

I. Kaninchen — am 3. Januar 1906 mit syphilitischem Material inokuliert.

Es dient dazu ein Intialsyphilom, d. h. das aus den tiefen Teilen desselben Abgekratzte, das dann in einem Mörser fein zerstampft wurde.

Von diesem Brei wurden die an der Hornhaut des rechten Auges des Kaninchens gemachten Risse bespritzt und mit demselben etwas mit physiologischer Lösung verdünnten Material wurde sodann mit Hilfe einer Pravazschen Spritze die Vorkammer des anderen Auges in der Nähe des Limbus injiziert.

In dem verwandten Syphilom waren Spirochäten nachweisbar.

Im rechten Auge traten keine weiteren Erscheinungen auf, es heilte. Lange Zeit nachher (April) wurde es ausgetragen, zeigte aber nichts Besonderes.

Im linken Auge dagegen traten allerdings im Anfange keine Vorgänge zutage, höchstens ließ sich eine leichte Reaktionsentzündung mittlerer Stärke nachweisen, die jedoch nach und nach abnahm.

In den ersten Tagen des Februars hingegen zeigte sich in diesem Auge eine stark zur Ausdehnung sich neigende Verletzung; die Sklera war in der der Injektionsstelle anliegenden Gegend hyperämisch, die Hornhaut wies ein Geschwür von 3 mm Durchmesser auf, doch schien das ulcerierte Gewebe ziemlich erhaben, der Limbus war entzündet; der ganze Augapfel gespannt und hervorragend.

Am 13. Februar erschien die Verletzung deutlich vergrößert. Es fehlte jedoch, und das verdient bemerkt zu werden, eine wahre Trübung des Zentralteils der Hornhaut; sie erschien kaum verschleiert und hervorragend. Die Hornhautverletzung hatte inzwischen stark um sich gegriffen und maß ca. 6 mm im Durchmesser; man nahm eine deutlich unregelmäßige hervorragende Proliferation mit ebenfalls unregelmäßigen Rändern wahr, die ungefähr viereckige Form hatte.

Am 13. Februar trug ich das Auge aus. Wenngleich nun die Verletzung bedeutend war und als solche auch den Verdacht auf eine spezifische Verletzung aufkommen lassen konnte, war ich doch so weit davon entfernt, an eine syphilitische Läsion zu denken, daß ich die Uebertragung auf die Hornhaut anderer Kaninchen unterließ.

Das Auge wurde in Alkohol gehärtet, ein Teil wurde eingebettet, und einige verschiedenen Stellen der Hornhaut entnommene Teile wurden mit der Silbernitratmethode behandelt.

Das Ergebnis der mit dieser Silbernitratmethode behandelten Stücke läßt sich, wie folgt, zusammenfassen.

In der ganzen verletzten Hornhautzone und auch außerhalb derselben beobachtet man Myriaden von Spirochäten mit allen Merkmalen der *Spirochaete pallida*. In einigen Teilen der Läsion ist fast jede Hornhautstruktur verschwunden; lebhafte Lymphzelleninfiltration. Dieselbe drängt in der Hornhaut weit über die makroskopische Verletzungsstelle hinaus vor.

Die Spirochäten sind äußerst zahlreich. Ihre Deutlichkeit verdient ganz besonders hervorgehoben zu werden. Sie folgen der Richtung der Bindegewebslamellen; meist isoliert, zuweilen auch in Gruppen.

Die Spirochäten dringen ziemlich weit vor, denn auch dann, wenn jede Hornhautinfiltration fehlt, sind sie noch vorhanden. Und gerade an den Stellen, wo die Läsion und die Infiltration am deutlichsten ist, finden sich die wenigsten Spirochäten. Da, wo die Infiltration weniger ausgeprägt ist und an den der normalen Gegend benachbarten Stellen ist die Zahl der angehäuften Spirochäten zuweilen enorm. Nicht selten beobachtet man deren bis zu 100 auf einem einzigen mikroskopischen Felde.

Die Spirochäten fehlen in der Iris, in der Sklera und in dem Glaskörper. In dem Geschwürteile beobachtet man auch seltene Bakterienformen, die aber fehlen, sobald man sich von der Zentralzone der verletzten Stelle entfernt, die an Spirochäten äußerst reich ist.

Die Form, unter der sie sich dem Auge des Beobachters bieten, ist, wie gesagt, typisch. Ganz deutlich kann man wahrnehmen, wie sie den Bindegewebsfibrillen folgen und sich zwischen ihnen niederlassen.

Unter diesen Formen sind auch sehr interessante. So kann man nicht selten Spirochäten beobachten, die zu zwei und zwei Windung in Windung zusammengehalten sind, oder aber ein Stück lang vereinigt sind und dann in dem übrigen Teile geteilt liegen. Zuweilen sind diese Spirochäten nur noch eine kleine Strecke ineinandergewunden, oft aber auch bis zur Hälfte der ganzen Länge, und zwischen diesen Extremen finden sich dann die verschiedensten anderen Zwischenformen.

Der Eindruck, den diese Formen machen, ist der, daß es sich hier nicht um eine einfache Nebeneinanderstellung, sondern um eine wirkliche longitudinale Vervielfältigung handelt.

Es ist natürlich nicht leicht, diese Erscheinung in erschöpfender Weise absolut darzustellen, betrachtet man diese Formen aber genauer in feinsten Sektionen (2—3 μ), die eine Uebereinanderlage der Bilder ausschließen, so erhält man wirklich den Eindruck, daß da wirklich eine longitudinale Vermehrung der Spirochäten vorliegt [1]).

Es kann nun keinesfalls Staunen erregen, daß dieser Prozeß in einer Verletzung in Tätigkeit angetroffen werden kann, wo eine enorme Vervielfältigung stattfindet, genau wie diese in einer Kultur vor sich gehen würde.

Vom histologischen Standpunkt aus konnte nun die Frage auftreten, ob die Verletzung wirklich als syphilitische angesehen werden durfte.

Außer den sekundären syphilitischen Hornhauterscheinungen kennen wir auch primäre [2]), doch geht schon aus der Lektüre der seltenen Fälle primärer syphilitischer Hornhautverletzungen zur Genüge hervor, daß es sehr schwer hält, einen festen Typus von Hornhautsyphilom festzustellen.

Mit der in Untersuchung befindlichen Hornhaut habe ich dann farbige Präparate gemacht nach den gewohnten Methoden: Pappenheim, Polychromblau, Giemsa, van Gieson.

Die Verletzung zeigt dabei nachstehendes Bild. Schon bei schwacher Vergrößerung kann leicht festgestellt werden, daß die Läsion ihren Sitz dem Hornhautlimbus zu hat. Auch die Iris ist in den Prozeß hineingezogen und besitzt in der Limbusgegend Synechien mit der Hornhaut.

In der verletzten Zone erblickt man vor allem einen erhöhten, über die Ränder der normalen Hornhaut hinausragenden Teil. Das Hornhautepithel fehlt, die Struktur der Hornhaut ist vollauf modifiziert. Ziemlich leicht lassen sich einige kleine Gefäße wahrnehmen, die im Zentrum der Läsion und in der Nähe des Punktes liegen, bei dem die Pigmentzellen der Sklera beginnen.

Das Gefäßendothel ist angeschwollen, um die Gefäße herum finden sich Haufen von einkernigen Elementen; Plasmazellen werden nicht be-

---

1) Kürzlich hat auch Zettnow (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LII. p. 3) analoge Formen der Spirochäte Obermeyers beschrieben. Er faßt die komplizierten Formen aber einfach als Anhäufungen auf.

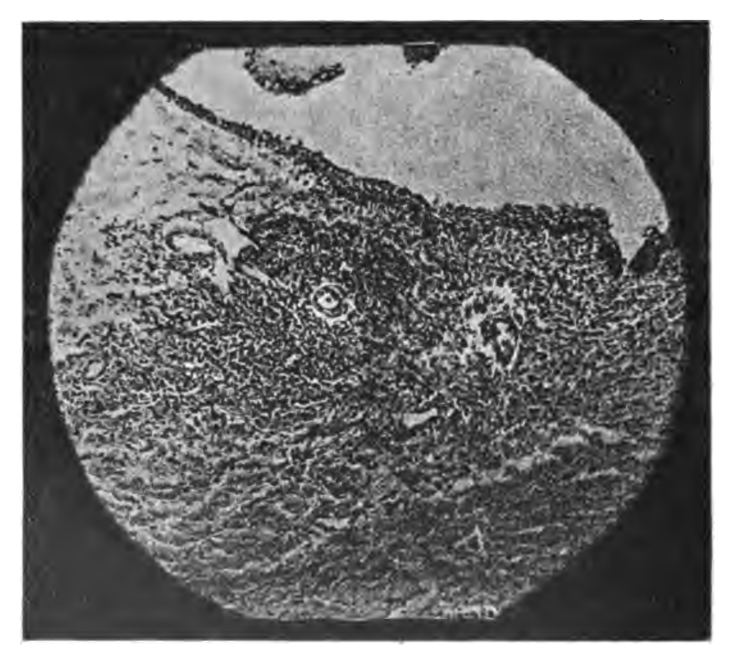
2) Eine gute Zusammenfassung dieser Fälle findet sich bei A. Antonelli und A. Benedetti, Les affect. syphilit. de la cornée. (Recueil d'ophthalmol. 1905. p. 719.)

obachtet; die einkernigen bilden um die Gefäße herum einen wahren, dicken, knötchenartigen Herd und greifen, wenn auch zahlenmäßig vermindert und weniger dicht, auch auf die Hornhaut über und infiltrieren sie auf einer ziemlich großen Strecke. Selbstverständlich findet man etwas entfernt vom Limbus infolge Fehlens der Gefäße keine perivaskuläre Disposition der Infiltration vor, die, hier angelangt, das typische Aussehen einer lebhaften Lymphzelleninfiltration verliert.

Auch die Iris ist in der Nähe der Synechialpunkte ein kurzes Stück lang von Lymphzellen infiltriert.

Es ergibt sich also hieraus, daß die Verletzung eine Mononukleose ist mit lymphocytärem Charakter und der deutlichen Neigung zu perivaskulärer Anhäufung.

Die beigefügte Photographie kann einen Begriff geben von der Verletzung in der Nähe des Limbus; man nimmt da eine lebhafte, parvicelluläre Infiltration und perivaskuläre Anhäufung wahr.



1. Kaninchen. Lymphzelleninfiltration der Hornhaut in der Nähe des Limbus (Objektiv Koristka 5. Ocul. 3).

Was nun hierbei sofort ins Auge fällt, ist die geringe Anzahl der Spirochäten in der Nähe der am meisten verletzten Zone, während diese äußerst zahlreich werden (bis 100 pro mikroskopisches Feld), gerade an den Stellen, wo die histologische Läsion nicht mehr gekennzeichnet ist.

Die Hornhaut ist übrigens überall leicht von Lymphzellen infiltriert. Hier und da sind die Anhäufungen deutlicher, an anderen Stellen selten. Bezüglich der Gegenwart der Spirochäten könnte man von wirklichen Lieblingszonen reden, in denen sie sich anhäufen und die kleinen Lücken zwischen den Bindegewebszellen ausfüllen.

In dem Geschwürsteile sind die Spirochäten selten, zuweilen zerstückelt, oft auch zu Körnchen reduziert und immer in den tiefen Zonen.

An der Oberfläche beobachtet man sehr selten Bakterienformen. Direkt unter der Oberfläche fehlen diese Bakterienformen vollständig. Im Hornhautepithel und bei demselben fehlen die Spirochäten immer.

Faßt man also das Ganze der histologischen Läsion ins Auge, so sieht man, daß sie an die Spirochäteninvasion gebunden und man könnte fast sagen, von ihr bedingt erscheint und das Bild einer Neoformation des Bindegewebes mit deutlicher kleinzelliger Infiltration und Anhäufung der Lymphocyten um die Gefäße herum annimmt. (Schluß folgt.)

Die Empfänglichkeit der Muriden der subkutanen Wutinfektion gegenüber[1]).

Von **Claudio Fermi**,
Vorstand am hygienischen und am Pasteurschen Institute zu Sassari.

Die gewöhnlichen Versuchstiere, die bisher zum Studium der Tollwut benutzt wurden (Kaninchen, Meerschweinchen, Hunde, Katzen), sind bekanntlich, und wie wir später sehen werden, den Einspritzungen des fixen Virus auf subkutanem Wege gegenüber sehr wenig empfindlich. Nun wäre es aber sehr nützlich gewesen, sowohl in Bezug auf die Schutzimpfung und die Behandlung der Tollwut, als auch zum Studium der Wirkung der verschiedenen chemischen Agentien auf das Wutvirus, in der Forschung nach letzterem in sehr verdünnten Flüssigkeiten, oder wenn man an der Anwesenheit des Virus zweifelt, wie im Harn, im Speichel und in den verschiedenen Organen, ebenso bei Forschungen zu diagnostischen Zwecken mit Wutstoff, welcher sich in beginnender Fäulnis befindet, ein dem Wutvirus gegenüber auf subkutanem Wege empfängliches Versuchstier zu haben.

Tiere von solcher Empfänglichkeit auf subkutanem Wege dem fixen Virus (aus dem Pasteurschen Institute von Sassari) und dem Straßenvirus gegenüber habe ich schon seit 1900[2]) in den gewöhnlichen Arten von Muriden, wie Mus rattus, Mus decumanus, Mus musculus und in den weißen Ratten und weißen Mäusen gefunden. Sehr gering war seitdem die Zahl der Versuche, welche andere Forscher an den obengenannten Nagetieren unternommen haben, und noch weit geringer die Infektionsversuche auf subkutanem Wege. Versuche von anderen Autoren über die Wutübertragung auf die Muriden auf subkutanem Wege vor und nach meinen vorläufigen Veröffentlichungen, die in der Riforma medica erschienen sind, fehlen fast vollständig. Die Versuche von Remlinger[3]), Carlos França[4]) und von Nicolle und Chal-

1) Meine vollständigen Arbeiten werden bald im Archiv für Hygiene erscheinen, und die erste vorläufige Mitteilung ist in der Riforma medica. Jahrg. XXI. No. 36 zu sehen.

2) Meine ersten Versuche über die Uebertragung der Lyssa auf die Muriden auf subduralem Wege stammen aus dem Jahre 1898 und diejenigen auf subkutanem Wege von 1899: Siehe hierüber die Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde des Kandidaten Guzzardi, die im hygienischen Institut der kgl. Universität Rom hergestellt, und meine zwei Arbeiten: La recettività dei Muridi verso l'infezione ipodermica di virus rabico e di alcuni microrganismi verso i filtri di carta svedese.

3) Remlinger, Soc. de Biol. 1904. 7. Januar.

4) Carlos França, Ber. de med. veterin. 1905. No. 40. — Arch. d. l'Inst. R. de Bacter. de Camara Pestana. Lissabon 1900.

tiel[1]), Galli-Valerio[2]) sind nur auf subduralem, cornealem und intramuskulärem Wege angestellt. Diese Veröffentlichung von Galli-Valerio erschien später, als meine erste vorläufige Mitteilung hierüber, die in der Riforma Medica veröffentlicht ist[3]).

An diesen Tieren habe ich die Wirkung einer großen Anzahl chemischer Substanzen auf das Wutvirus studieren können.

Ich habe die Virulenz der Cerebrospinalflüssigkeit, des Speichels, des Harns, des Knochenmarks, des Pankreas etc. noch kranker Tiere studiert, Sekretionen, Auswürfe und Organe, die wegen ihrer toxischen Eigenschaften, des Gehaltes an Mikroben oder der einzuimpfenden Flüssigkeitsmenge durchaus nicht in großer Menge, wie sie nötig war, sub dura hätten injiziert werden können, um endgültige Resultate zu erlangen.

Diese für das auf subkutanem Wege eingeführte Wutvirus so empfänglichen Tiere dienten mir auch in den angestellten Forschungen in Bezug auf die Schutzimpfung gegen die Tollwut, und zwar weit wirksamer, als dies die auf subduralem Wege empfänglichen Tiere getan hätten; vielleicht weil es viel leichter ist, gegen Infektionen auf subkutanem Wege zu immunisieren, als wenn das Virus direkt in die Nervenzentren eingeimpft ist, auch dürfen wir nicht vergessen, daß der praktische Zweck ähnlicher Immunisierungsversuche stets der ist, gebissene Tiere zu retten.

Die Ratten besonders ertrugen bis 2—3 ccm täglich einer Emulsion nervöser Substanzen und anderer Organe.

Andere Vorteile, welche diese Tiere bieten, sind der kleine Körperbau, welcher gestattet, sie in Käfigen, in gläsernen Gefäßen und so in größerer Zahl in kleinen Räumen zu halten, die geringen Beschaffungskosten sowie die nicht kostspielige Erhaltung.

Bei den verschiedenen Hunderten sowohl weißer als schwarzer Mäuse und Ratten, die seit 6 Jahren im Pasteurschen Institute zu Sassari inokuliert wurden, und von denen ein Teil zu vorliegenden Versuchen gedient hat, habe ich zu dem Schlusse kommen können, wie man später sehen wird, daß die Muriden, an denen ich die Versuche habe vornehmen können, in Bezug auf die Empfänglichkeit der Tollwut gegenüber mit den gewöhnlichen, sub dura geimpften Versuchstieren wetteifern können, so daß man in jenem Institute sowohl für diagnostische Zwecke als auch zu Versuchen sich in großem Umfange der Ratten und Mäuse bediente.

Die unstreitbare Bedeutung einerseits, die Möglichkeit gefunden zu haben, Tiere ganz sicher und beständig auf subkutanem Wege mit dem fixen Virus des antirabischen Institutes zu Sassari und mit dem Straßenvirus zu infizieren, die Ungläubigkeit andererseits, auf welche diese Tatsache stoßen konnte, zwangen mich, in verschiedenen Tabellen die Mehrzahl der Versuche bezüglich der von mir infizierten und an der Tollwut gestorbenen Tiere (ungefähr 600) zu sammeln.

---

1) Nicolle et Chaltiel, Annales de l'Institut Pasteur. 1904. p. 644.
2) Galli Valerio, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XL. 1905. Heft 2.
3) Dem Prof. Galli-Valerio war, wie er mir schrieb, meine obengenannte Mitteilung entgangen, und wahrscheinlich fehlte ihm die Zeit, dieselbe in seiner zweiten Veröffentlichung zu erwähnen, was er ganz gewiss würde getan haben, da ich ihm darüber geschrieben habe und meine Arbeit vor der Veröffentlichung des zweiten Teiles seiner zweiten Mitteilung gesendet hatte. Dasselbe ist auch Carlos França zugestoßen.

Die Zusammenstellung dieser Tabellen war mir ferner unumgänglich notwendig, um die Inkubations- und die Krankheitsdauer bei den auf verschiedenen Wegen infizierten Muriden studieren zu können.

Aus obengenannter Tabelle, die in der ausführlichen Arbeit zu ersehen sind, ergibt sich folgendes:

1) Daß fast sämtliche Muriden, d. h. 564, nämlich 220 weiße Ratten, 141 schwarze, 169 weiße Mäuse und 34 schwarze, die von dem Pasteurschen Institute zu Sassari subkutan mit fixem Virus geimpft wurden, an der Tollwut zu Grunde gingen.

2) Daß, wenn wir nur die in Sassari mit fixem Virus geimpften und keiner besonderen Behandlung (z. B. Immunisierung oder Schwächung des Virus) unterworfenen Tiere in Betracht ziehen, der Tod unter den verschiedensten Arten von Muriden in folgenden Zeiträumen auftrat:

a) Unter den weißen Ratten, die subkutan mit fixem Virus geimpft wurden, trat der Tod bei 49 Proz. nach 7 Tagen ein, bei 10 Proz. nach 12 Tagen, bei 8 Proz. nach 10 Tagen, bei 6 Proz. nach 9 Tagen und 12 Proz. nach 6 Tagen.

b) Von den schwarzen, subkutan mit fixem Virus geimpften Ratten starben 80 Proz. nach 7 Tagen, 11,4 Proz. nach 9 Tagen und 7 Proz. nach 5 Tagen.

c) Von den weißen, mit fixem Virus subkutan geimpften Mäusen starben 87 Proz. nach 7 Tagen, 7 Proz. nach 6 Tagen und 4 Proz. nach 5 Tagen.

d) Von den schwarzen, mit fixem Virus subkutan geimpften Mäusen starben 77 Proz. nach 7 Tagen und 22 Proz. nach 6 Tagen.

e) Von den weißen, sub dura mit fixem Virus geimpften Ratten starben 93,7 Proz. nach 7 Tagen und 6,2 Proz. nach 5 Tagen.

Von den weißen mit Straßenvirus subkutan geimpften Ratten starben 55 Proz. nach 13 Tagen, 4 Proz. nach 16 Tagen, 20 Proz. nach 14 Tagen und 11 Proz. nach 12 Tagen.

6) Von den schwarzen, mit Straßenvirus subkutan geimpften Ratten starben 31 Proz. in 13 Tagen, 20 Proz. nach 16 Tagen, 17 Proz. nach 15 Tagen, 11 Proz. nach 12 Tagen, 8,5 Proz. nach 20 Tagen, 2,8 Proz. nach 21—22 Tagen.

Schlußfolgerung. a) Die Lebensdauer der mit fixem Virus des Pasteuerschen Instituts zu Sassari subkutan geimpften Tiere schwankte sehr bedeutend, je nach den verschiedenen Arten von Muriden, die benutzt wurden. Während in der Tat 80 Proz. der schwarzen Ratten in 7 Tagen verendeten, starben von den weißen nur 61 Proz. in 7 Tagen, während der Rest nach 9—15 Tagen zu Grunde ging.

b) Vergleicht man die Empfindlichkeit der weißen Mäuse mit jener der weißen Ratten, so sieht man, daß die Mäuse empfindlicher als die Ratten sind, denn der Prozentsatz der weißen Mäuse war fast der doppelte (87 Proz. gegen 49 Proz.).

c) Die Muriden und besonders die schwarzen Ratten (Mus decumanus und Mus rattus) sowie die schwarzen Mäuse (Mus musculus), die mit fixem Virus von Sassari sub cute geimpft waren, haben dieselbe Sterblichkeit gegeben wie diejenigen, die von den verschiedenen anderen, per viam subduralem eingeimpften Tierarten gegeben wird[1]).

---

1) Frisch erzielte in den sub dura mit fixem Virus geimpften Kaninchen 1,5 Proz. von negativen Fällen (14:900) und Högyes 60 Proz. bei den Hunden (6:10). Durch Einimpfung von Straßenvirus erzielt Högyes ein negatives Resultat bei 40 Proz. von Hunden (6:15).

Prof. Galli-Valerio impfte im ganzen nur 2 Muriden subkutan. 9 Muriden wurden intramuskulär geimpft, und zwar die weiße Ratte No. 22, die schwarzen Ratten No. 29, 78, 100, die schwarzen Mäuse No. 72, 75, 84, 126, alle anderen wurden auf subduralem und cornealem Wege infiziert.

Von diesen 9 Tieren wurden nur 3 gerettet und zwar die weiße Ratte No. 22 und die grauen Mäuse No. 72, 75. Von diesen 3 Tieren ist außerdem eins, und zwar die weiße Ratte No. 22, auszuschalten, die sich der Tollwut gegenüber als vollständig unempfindlich erwies, was spätere wiederholte Einspritzungen sub cute bewiesen.

Man hatte also eine Sterblichkeit von 6 : 8, d. h. 77 Proz. Welches auch immer der Wert dieses Prozentsatzes ist, so bestätigt er doch die von mir zum ersten Male nachgewiesene Empfindlichkeit der Muriden der subkutanen Infektion der Tollwut gegenüber [1]).

Symptomatologisches Bild der Tollwut bei den Muriden.

Das symptomatologische Bild der von experimenteller Tollwut, sei es auf dem Wege subkutaner oder subduraler Einspritzungen affizierten Ratten oder Mäuse nähert sich sehr dem der Kaninchen und der Meerschweinchen.

Die genannten Symptome sind folgende:

Ein oder zwei Tage vor dem Tode tritt bei dem Tiere Parese und dann eine ausgeprägte Lähmung der hinteren Extremitäten auf; es hat einen schleppenden Gang, beim Laufen fällt es und bisweilen wälzt es sich. Wenn es still steht, biegt es den Körper bogenförmig, so daß der Kopf bis an den Bauch kommt. Manchmal kann man auch eine Parese der vorderen Extremitäten beobachten. Selten konnte ich unzweifelhaften Trieb zum Beißen beobachten, und zwar nicht nur in den mit fixem Virus infizierten Tieren, sondern auch bei jenen, die mit Straßenvirus infiziert worden waren.

Fast beständig am 2. Tage, selten an demselben und noch seltener am 3. Tage nach Beginn der Lähmung ging das Tier zu Grunde.

Einen seltsamen und anhaltenden Zustand von Aufregung bemerkte ich nur bei einigen schwarzen Mäusen, die mit fixem Virus, das aus dem Florentiner Institute stammte, geimpft worden waren, und bei einer schwarzen, mit Straßenvirus sub cute infizierten Ratte. Diese biß in einem Anfalle furioser Wut Ratten und Mäuse, die absichtlich in ihren Käfig gesetzt worden waren, ohne auf dieselben die Krankheit zu übertragen. Die Mäuse (nie die Ratten) zeigen oft eine serös-eitrige Conjunctivitis.

Dauer der Krankheit, d. h. Zeitraum, der bei den Muriden von Anfang der Paralyse bis zu deren Tode notwendig ist.

Der Zeitraum, welcher vom Beginn der Paralyse bis zum Tode der durch fixes Virus subkutan infizierten Muriden verläuft, ist einigen Schwankungen unterworfen.

Meine Beobachtungen haben mich zu folgenden Schlüssen geführt:

---

1) Eine weitere Bestätigung liefern mir in einer Note über die Veränderlichkeit der Virulenz des freien Virus Prof. De Blasi, Direktor des Pasteurschen Institutes zu Palermo, und Dr. Mazzei aus dem städtischen bakteriologischen Institut zu Messina, die beide ebenfalls eine Sterblichkeit von ungefähr 100 Proz. bei den sub cute mit freiem Virus eingeimpften Muriden verzeichnen.

1) Bei den weißen Ratten war die Dauer der Krankheit bei 60 Proz. ungefähr 2 Tage und 1 Tag bei 40 Proz. In wenigen seltenen Fällen dauerte die Krankheit noch am 3. Tage an.

2) Bei den schwarzen Ratten hingegen, die, wie gesagt, eine etwas ausgeprägtere Empfindlichkeit besitzen als die weißen, trat der Tod bei 85 Proz. nach 1 Tage und bei 15 Proz. nach ungefähr 2 Tagen ein. In sehr seltenen Fällen konnte man auch hier eine Krankheitsdauer von 3 Tagen und in anderen von bloß einigen Stunden beobachten.

Unterschied betreffs der Dauer der Inkubationsperiode und der Krankheit bei Muriden, die sub cute und sub dura geimpft wurden.

Die Resultate zeigen keine große Verschiedenheit, wenn die Muriden anstatt sub cute sub dura inokuliert werden.

1) Während von den weißen und schwarzen sub dura mit fixem Virus geimpften Ratten am 8. Tage 16,6 Proz. der weißen und 8,8 Proz. der schwarzen starben, verendete hingegen keine einzige von den sub cute geimpften, wohl aber 20 Proz. der schwarzen Mäuse.

2) Der Prozentsatz der weißen sub dura geimpften Ratten, die am 7. Tage starben, war ungefähr zweimal so groß (39 Proz.), als jener der sub cute geimpften (32 Proz.).

Der Prozentsatz bei schwarzen sub dura geimpften und am 7. Tage verendeten Ratten war viermal so groß (100 Proz.), als jener der subkutan geimpften Ratten.

3) Der Prozentsatz der weißen sub dura geimpften Ratten, die mit Verspätung starben, d. h. später als 7 Tage (8—12), war wenig höher (50 Proz.), als jener der weißen sub cute geimpften Ratten (40 Proz.).

Der Prozentsatz der schwarzen Ratten, die mit Verspätung starben, belief sich auf 7 Proz. bei den sub dura geimpften und 0 Proz. bei den sub cute inokulierten.

Schlußfolgerung: Wir können daher, Alles zusammen genommen, den Schluß aufstellen, daß die sub cute geimpften Muriden nicht später als jene, die sub dura geimpft worden waren, wohl aber ungefähr in derselben Anzahl von Tagen zu Grunde gingen.

Aus einer anderen Tabelle, auf welcher die Prozentsätze der Minimal-, Maximal- und Durchschnittsdauer der Krankheit der verschiedenen, für die Tollwut empfänglichen Tiere angegeben sind, geht Folgendes hervor:

1) Unter allen zum Versuch verwandten Tieren (den Menschen inbegriffen) sind es die Muriden, welche die kürzeste Krankheitsdauer aufweisen (Minimal- wenige Stunden, Maximal- 3—4 Tage, Durchschnittsdauer 1—2 Tage).

2) Die Maximaldauer würde man im allgemeinen bei den Vögeln wahrnehmen (Minimal- 2—5 Tage, Maximaldauer 25 Tage bis 6—7 Monate).

3) Unter den Säugetieren wäre es das Stachelschwein und der Igel, die eine längere Krankheitsdauer aufzuweisen hätten (15 Tage).

4) Unter den Vögeln wäre die kürzeste Dauer beim *Buteus vulgaris* (4 Tage) und die längste (17 Tage) bei den Enten und manchmal auch bei den Tauben.

5) Obwohl die Muriden die kürzeste Dauer der Krankheit aufweisen, so kann man doch nicht hieraus schließen, daß dies mit dem kleinen Körperumfange der Tiere in Verbindung steht. Die Dauer der Krank-

heit ist in der Tat fast die gleiche, sowohl bei den Kaninchen und bei dem Hunde, als auch beim Pferd und beim Ochsen. Bedeutend länger als beim Pferd und beim Ochsen wäre sie beim Stachelschwein und beim Igel, wie auch bei einigen Vögeln.

Demnach steht die Dauer der Krankheit vielmehr im Verhältnis zu der Widerstandsfähigkeit, die das Nervensystem der verschiedenen Vögel der Entwickelung und der Verbreitung des Virus und der pathogenen Wirkung desselben entgegensetzt und zu den Verteidigungsmitteln von seiten des ganzen Organismus, als mit dem Körperumfange derselben[1]).

Ist es möglich die Tollwut zu übertragen auch durch Infizierung der Muriden mittels fixen Virus auf Wunden, die in die Haut gemacht wurden?

Um diese Frage zu entscheiden, unternahm ich verschiedene Versuche, von denen ich nur das Resultat hier anführen werde: Von 12 (8 weißen und 4 schwarzen) an leichter Hautwunde mit fixem Virus infizierten Ratten starben 4 an Wut nach 10 Tagen, 2 nach 9 Tagen und 6 andere starben nach 16—20 Tagen aus unbekannter Ursache. Wir können demnach hieraus schließen, daß die Muriden (Ratten) die Infektion sich auch durch leichte Hautwunden zuziehen können.

Versuche zur Uebertragung der Tollwut auf Vögel.

Da ich nun einmal ein fixes Virus zur Verfügung hatte, das sich durch eine ganz besondere Virulenz auszeichnete, schien es mir nicht ohne Interesse zu sein, dasselbe auch bei Vögeln zu probieren. Von den vielen Versuchen werde ich nur die erhaltenen Ergebnisse anführen:

Resultat: Von den 49 Vögeln (19 Grünfinken, 15 Sperlingen, 6 Distelfinken, 5 Finken, 1 Amsel, 1 Rabe und 1 Mäusebussard), die mit fixem Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Sassari sub cute und sub dura geimpft waren, blieben 44 am Leben und 5 gingen zu Grunde, aber nicht an Tollwut.

---

1) Auch die Länge der Inkubationsperiode steht nicht im Verhältnis zu dem Körperumfange des Tieres, denn dieselbe ist ungefähr gleich, sowohl bei der Maus, als auch beim Kaninchen und beim Pferd. Nehmen wir z. B. an, der Körper der Maus wäre 25mal kürzer als jener des Pferdes, so würde in letzterem das Virus (angenommen, daß es sich auf venösem Wege verbreitet) in derselben Zeit einen 25mal längeren Weg zurücklegen, als bei der Maus.

Ueber die Differenz in der Virulenz des fixen Virus von verschiedenen antirabischen Instituten.

Von **Claudio Fermi.**

Daß die Virulenz des Wutvirus äußerst verschieden ist, geht schon aus den sehr verschiedenen Prozentsätzen hervor, welche die verschiedenen Forscher in der Sterblichkeit der sowohl auf subduralem wie intraokularem und subkutanem Wege infizierten Tiere erzielen.

Bei dem Studium der Arbeiten der verschiedenen Autoren, und zwar Fall für Fall, sowie beim Berechnen der Durchschnittsprozentsätze der Sterblichkeit der verschiedenen Versuchstiere durch die auf verschiedenen Wegen eingeimpften verschiedenen Virusarten ergibt sich folgendes:

Während die Sterblichkeit infolge subduraler Infektion durch Straßenvirus nach Pasteur bei den Hunden 100 Proz. (1:5) war, war sie nach Högyes nur 60 Proz.

Was die Infektion auf demselben Wege mit fixem oder Passagevirus betrifft, so habe ich nur den Versuchen von Högyes einen Prozentsatz entnehmen können, und zwar hinsichtlich des fixen Virus eine Sterblichkeit bei den Hunden von 40 Proz. (4:10) und in Bezug auf das Passagevirus eine solche von 83 Proz. (5:6).

Mit Straßenvirus erhielt Hertwig durch subkutane Infektion eine Sterblichkeit unter den Hunden von 16 Proz. (14 : 16), während Kraïouchkine eine solche von 89 Proz. erhält. Während Frisch die auf demselben Wege und stets mit dem gleichen Virus erzielte Mortalität unter den Kaninchen auf 59,4 Proz. berechnet, gelangt Kraïouchkine auf 20 Proz. (27 : 39) und in einem anderen Versuche auf 83 Proz. (5 : 6).

Was die Infektion durch Bisse von Hunden betrifft, die von der Tollwut befallen waren (Straßenvirus), so hatte Hertwig bei den Hunden einen Prozentsatz von 20 Proz. (5:25) positiver Fälle, Pasteur hingegen bis zu 40 Proz. (4:9).

In Bezug auf endovenöse Infektion durch Straßenvirus soll Pasteur in den Hunden eine Sterblichkeit von 62 Proz. (5:8), Hertwig hingegen nur eine solche von 18 Proz. (2:11) erreicht haben.

Ich hielt es daher für angebracht, die Virulenz des fixen Virus der verschiedenen italienischen Institute zu studieren.

Der Versuchsplan war folgender:

1) Virulenz des fixen Virus verschiedener Herkunft, das bei gewöhnlicher Konzentration Ratten und Mäusen sub cute eingeimpft war.

2) Virulenz des fixen Virus, den verschiedenen Instituten entstammend und den Ratten und Mäusen in verschiedenen Verdünnungen eingeimpft zum Zwecke, die tödliche Minimaldosis eines jeden Virus festzustellen.

3) Virulenz des fixen Virus verschiedener Herkunft und in verschiedenen Verdünnungen, den Kaninchen und den Meerschweinchen eingeimpft.

Vor der Hand führe ich nur die mit der ersten Reihe der angestellten Versuche erlangten Resultate an:

1) Daß die Virulenz des fixen, auf subkutanem Wege injizierten Virus sehr verschieden ist, je nach dem Institute, aus dem es stammt.

2) Daß, wollte man das fixe Virus der verschiedenen Institute der höchsten Virulenz nach einteilen, die gegenwärtige Reihenfolge folgende ist:

a) Fixes Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Sassari, welches eine Sterblichkeit von 100 Proz.[1]) gibt. Dieser Prozentsatz wurde bei mehreren Hunderten von Muriden berechnet.

b) Fixes Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Palermo, welches ebenfalls eine Sterblichkeit von ungefähr 100 Proz. gab. Dieser Prozentsatz wurde jedoch nur bei 10 Muriden berechnet.

c) Fixes Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Rom und Turin das ebenfalls eine Sterblichkeit von 60 Proz. gab. Diese Prozentsätze wurden für das römische Virus auf 9 Tiere und für das Turiner fixe Virus auf 12 berechnet.

d) Fixes Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Florenz, welches eine Sterblichkeit von 36 Proz. gab. Dieser Prozentsatz wurde auf 14 Tiere berechnet.

e) Fixes Virus aus den Pasteurschen Instituten zu Bologna[2]) und Mailand, die beide eine Mortalität von 0 Proz.[3]) gaben.

Die verschiedenen Forscher, die bis jetzt mit dem fixen Virus experimentiert haben, haben sich nicht viel um die Auswahl desselben gekümmert. Jeder hat einfach mit seinem fixen Virus gearbeitet.

Die oben erwähnten Ergebnisse lehren uns aber, daß man, bevor man solche Versuche anzustellen anfängt, die Virulenz des fixen Virus bei verschiedenen Versuchstieren und auf verschiedenen Injektionswegen prüfen muß. Man muß also wie beim Studium der gewöhnlichen pathogenen Mikroorganismen verfahren.

---

1) Ich führe diese Prozentsätze an, um eine klare Idee von der Verschiedenheit des fixen Virus aus den verschiedenen Instituten zu geben. Man wird begreifen, daß, um Prozentsätze genau feststellen zu können, es notwendig ist, die Versuche auf eine große Anzahl von Tieren auszudehnen, und zwar nicht nur auf Tiere derselben Gattung, sondern auch desselben Alters, denn in Bezug auf die Empfänglichkeit kommen zuerst die jungen schwarzen Mäuse, dann die alten schwarzen Mäuse, dann die jungen weißen, hierauf die schwarzen Ratten, die weißen, sodann die alten weißen Mäuse und endlich, als die am wenigsten empfänglichsten, die weißen Ratten.

2) Ich hebe jedoch hervor, daß dieses Virus fast trocken ankam und daß man nur mit weißen Mäusen experimentierte.

3) Für das fixe Virus aus Mailand hat dieser Prozentsatz wenig Wert, denn nicht einmal die sub dura inokulierten Kaninchen starben, und deshalb wurden die Versuche wiederholt.

Du paludisme congénital[1]).

Par

Dr. N. Pezopoulos, Professeur à l'Université d'Athènes.

et

Dr. J. Cardamatis, Ex-chef de Clinique à la Faculté d'Athènes.

Depuis un temps très reculé on avait posé la question si le paludisme peut être transmis au foetus par la mère malade à travers le placenta. Avant la découverte de l'hématozoaire par Laveran cette transmission était considerée par tous presque comme un fait indéniable; Verneuil même „a déclaré avec toute sa grande autorité que le paludisme est transmissible héréditairement non seulement aux enfants mais encore aux petits enfants“ [2]). Mais depuis la découverte du parasite paludique et de son mode de transmission par les moustiques anophèles la croyance en cette opinion a été sérieusement ébranlée et secouée dans ses fondements. Les investigateurs les plus sérieux et notamment ceux qui s'occupent des questions de paludisme comme Bignami et Guarnieri, G. Bartianelli, W. S. Tayer, Marchiafava et Bignami, S. Sereni et d'autres encore, ayant examiné le sang de mères atteintes de fièvres palustres et le sang des leurs nouveau-nés ou des leurs foetus avortés ont trouvé dans le sang des mères seulement les hématozoaires de Laveran et non dans le sang des foetus et des nouveau-nés. Comme conséquence on admet généralement que le parasite du paludisme n'est pas transmissible à travers le placenta de la mère au foetus. De plus Bignami et Sereni ont même prouvé que chez le foetus manquent non seulement les parasites-palustres mais même l'anémie qu'on s'attendait à rencontrer en égard à l'anémie profonde et à la cachéxie dans laquelle se trouve la mère.

Ayant étudié à notre tour cette question, nous sommes arrivés aussi à la conclusion que: les parasites du paludisme ne peuvent être transmis de la mère en grossesse au foetus à travers le placenta. A l'appui de cette conclusion vient l'examen microscopique minutieux de six cas chez qui nous avons examiné d'une part le sang des mères atteintes de fièvres palustres, le sang des nouveau-nés et celui du placenta, d'autre part des coupes microscopiques de cet organe ainsi que de coupes du foie et de la rate provenant de deux nouveau-nés morts l'un d'eux deux jours après l'accouchement de la maladie de Hirschprung, l'autre quelques minutes après la naissance.

Observation I. Despina Liapi, âgée de 28 ans, demeurant au faubourg d'Ampélokipous, au 9me mois de sa grossesse a eu le 24 août 1903 un accès de fièvre très intense, répété sous la forme quotidienne jusqu'au 29 août. Durant l'accès du 29 et à la température de 38° nous avons examiné le sang de la malade; nous y avons trouvé quelques parasites rares de forme annulaire, minces et irréguliers, ainsi que quelques rares gamètes semilunaires. Douze heures après l'examen du sang cette femme accoucha un peu prématurément d'un enfant en bonne santé. Le lendemain ayant examiné le sang du nouveau-né nous n'y

1) Communication faite au Ve Congrès Panhellénique. Athènes 1906.

2) Tsakiroglous, Le rapport qui existe entre le paludisme la grossesse l'accouchement etc. (Rapport présenté au IVe Congrès Panhellénique.) Athènes 1903.

avons trouvé aucun parasite, tandis que le sang de la mère contenait encore quelques parasites annulaires rares et quelques gamètes semilunaires.

Observation II. M[me] Anthi Vidali, âgée de 36 ans, habitant près de l'Ilissus. Le mois d'août de 1903 elle accoucha normalement d'un enfant vivant. Trois jours après elle eut son premier accès de fièvre palustre, répété le lendemain et le surlendemain; depuis lors, grâce à l'usage de la quinine, elle se portait bien jusqu'au mois d'avril 1904, lorsque le 6, 8 et 10 de ce même mois, c'est-à-dire 8 mois et $^1/_2$ après le premier accès, elle a eu trois nouveaux accès. Elle était alors enceinte de trois mois. Le 26 juin elle a eu un nouvel accès et à partir du 23 juillet durant 8 jours de suite elle a eu des accès quotidiens. Depuis lors jusqu'au jour de l'accouchement, effectué le 28 octobre 1904, elle s'était maintenue tout à fait en bonne santé, bien qu'elle n'ait pas voulu se soumettre à aucun traitement de crainte d'avorter.

L'examen du sang, fait les 8, 10 et 14 août, a démontré la présence de plusieurs parasites *Vivax*. Un nouvel examen fait le 4 octobre a demontré l'existence de ces mêmes parasites mais moins abondants. Le 19 octobre encore plus rares.

Trois heures après l'accouchement, le 28 octobre, nous avons pris, sur 14 lames, du sang de l'orteil du pied du nouveau-né qui était parfaitement sain et pesait 2850 grammes; nous avons pris du sang de la mère et des deux faces du placenta.

L'examen du sang du nouveau-né était absolument négatif, celui du sang de la mère a démontré l'éxistence en abondance de parasites *Vivax*.

Dans le sang du placenta, pris sur la face maternelle, il y avait peu de parasites, et dans le sang pris sur la face foetale il n'y avait absolument rien.

La prise du sang des deux faces du placenta a été faite par une incision superficielle après un lavage soigneux pour les nettoyer du sang de la mère dont elles étaient souillées.

A l'examen microscopique des coupes du placenta nous n'avons remarqué aucune lésion ni à la paroi ni aux diaphragmes entre les cotylédons, ni aux villosités. Les vaisseaux de ces différents endroits étaient tout à fait normaux et contenaient du sang dont les globules rouges avaient la forme et la couleur physiologiques. Mais dans les lacunes des cotylédons qui entourent les villosités, les rouges globules avaient subi une grande destruction et notamment ceux qui avoisinnaient la face maternelle du placenta. Mais nous n'avons nullement trouvé de parasites palustres, bien que nous ayons examiné un grand nombre de coupes, et employé différentes méthodes de coloration.

Observation III. Marie Psiloyanni, âgée de 19 ans, habitant Lamia. Le 17 juillet 1905, au cours du 5[me] mois de sa grossesse, elle fut atteinte pour la première fois à Lamia de fièvre continue avec vomissements bilieux qui dura pendant 8 jours, bien que la patiente a pris de la quinine plusieurs fois de suite. Après 8 jours d'apyréxie elle fut de nouveau atteinte pendant 15 jours de suite, de quelques accès de forme quotidienne. Un mois après, au milieu du mois de septembre, les accès quotidiens se sont répétés et au troisième, avec une température 40,4°, elle eut, d'après son dire, des selles et de vomissements sanglants et bilieux. Avec l'emploi de la quinine les accès ont cessé provisoirement et elle est arrivée à Athènes le 8 octobre.

Le soir même de son arrivée elle fut atteinte d'une fièvre continue qui dura 3 jours. Elle prit de la quinine et elle resta apyrétique jusqu'au 27 octobre lorsqu'un nouvel accès est survenue qui ayant commencé à 11^h du matin se prolongea jusqu'au soir. Le lendemain, 28 octobre, est survenue de nouveau une fièvre intense précédée d'un violant frisson qui, bien que la patiente eut pris quatre heures avant 20 grains de quinine, dura 16 heures. Deux heures après la prise de la quinine et avant l'invasion de cet accès, la patiente, qui se trouvait au 9me mois de sa grossesse, a senti une osphyalgie et de douleurs assez intenses au ventre qui continuèrent pendant toute la durée de la fièvre. A la fin de l'accès vers minuit, la malade a prit, sans l'avis du médecin, 50 centigrammes de quinine; mais alors les douleurs s'exaspérèrent, et le lendemain, 29 octobre, à 2^h et $^1/_2$ du matin elle accoucha prématurément d'un garçon en bon état qui pesait 2775 grammes.

Le placenta qui, par l'examen macroscopique, paraissait en bon état, pesait 580 grammes.

Une heure après l'accouchement nous avons examiné le sang de la mère, du nouveau-né et du placenta, pris sur ce dernier de différentes parties des deux faces par des incisions les unes superficielles les autres profondes, et du cordon ombilical. Deux heures après l'accouchement nous avons pris aussi du sang du placenta ainsi que des morceaux placentaires pour un examen microscopique.

L'état de la mère après l'accouchement était le suivant. Température 36,3°. Catarrhe bronchique léger. Rate tuméfiée et dépassant d'un travers de doigt les fausses côtes.

Observations microscopiques:

Nouveau-né. Dans son sang aucun parasite palustre; karyolyse dans bon nombre de globules blancs mono- et polynucléaires.

Sang de la mère. Quelques parasites minces de forme annulaire.

Placenta. Dans le sang pris sur la face foetale absolument aucun parasite palustre; globules blancs en grand nombre.

Dans le sang du cordon ombilical: aucun parasite. Dans le sang pris sur la face maternelle il y avait: α) quelques annulaires rares ayant la grandeur à peine d'$^1/_{24}$ du volume d'un globule rouge et portant la plupart un grain de chromatine noir, ainsi que quelques annulaires plus grands; β) des mérozoïtes, de grandeur égale au $^1/_{20}$ du volume d'un globule rouge presentant un protoplasma dense et un petit noyau qui dans beaucoup d'entre eux était noir (parasites morts); γ) des sphériques avec pseudopodes ayant la grandeur de $^1/_6$ d'un globule rouge, constitués de protoplasma épais et d'un noyau situé au centre du parasite; δ) des sphériques plus grands occupant les $^2/_3$ d'un globule rouge et ayant le noyau divisé en 2—3—6 parties (commencement de schizogonie). Ces parasites étaient très nombreux et la plupart endocellulaires. Notablement plus nombreuses étaient les formes schizogoniques; sur chaque champ microscopique il y avait 20 à 80 parasites.

L'examen microscopique des coupes du placenta a démontré qu'il était tout à fait en bon état et ne contenait pas de parasites. Mais il y avait une grande destruction des globules rouges qui se trouvaient dans les lacunes des cotylédons.

Observation IV. Marie Komninou, âgée de 30 ans, arthritique. Elle eut à Kea, son pays natal, le 8 septembre 1905, au cours du 5me mois de sa grossesse, pour la première fois, une fièvre continue

qui dura 3 jours et qui ejuérit par la quinine. Quelques jours après des nouveaux accès sont survenus de forme quotidienne qui ensuite se répétaient irrégulièrement tous les 6, 8 ou 10 jours jusqu'au jour de l'accouchement.

L'accouchement n'a pas été long, ayant été terminé dans deux heures. Le nouveau-né, 38 heures après l'accouchement, pesait 2800 grammes.

Le poids du placenta, pesé dans le Laboratoire d'Anatomie Pathologique 12 heures après l'accouchement était de 350 grammes. A l'examen macroscopique il semblait en bon état.

Nous avons pris du sang de la mère et du foetus à deux reprises, 32 et 36 heures après l'accouchement.

Nous avons aussi pris du sang de deux faces du placenta par incision, ainsi que du cordon ombilical.

Le nouveau-né est mort 63 heures après de la maladie de Hirschprung. A l'autopsie le foie, la rate et les reins ont été trouvé normaux; mais les intestins (grêle et gros), étaient considérablement distendus par des gaz. La distension commençait quelques centimètres audessus de l'anus, mais il n'y avait aucun rétrécissement à ce point ou plus bas.

Nous avons pris du sang sur de lames de verre du côté de la rate et du foie.

Examen microscopique:

Sang de la mère. Parasites *Praecox* de forme annulaire rares de grandeur égale au $^1/_6$—$^1/_{14}$ du volume d'un globule rouge et en même temps quelques annulaires grands. Pointillage de Schüffner gros.

Sang périphérique du nouveau-né. Sur 11 lames de verre examinées à plusieurs reprises et durant plusieurs jours, aucun parasite n'a été trouvé.

Sang pris de la surface foetale du placenta. Nous avons trouvé seulement deux parasites annulaires sur 11 préparations.

Sang du cordon ombilical. Rien.

Sang de la face maternelle du placenta. Des parasites sphériques *Praecox* en abondance.

Sang de la rate du foetus pris après la mort. Rien sur 6 préparations.

Sang du foie. Rien sur 8 préparations.

Dans de coupes faites de différentes parties du placenta nous n'avons trouvé absolument aucune parasite, sauf quelques amas de pigment noir dans les lacunes placentaires. Au point de vue histologique le placenta était normal.

Sur des coupes du foie et de la rate nous n'avons trouvé ni parasites ni aucune lésion anatomo-pathologique. L'examen de la région du coecum au-dessus et au-dessous du point où commençait la dilatation ne montrait aucune occlusion ni aucun rétrécissement.

Observation V. Pighi Vitsari, âgée de 26 ans, habitant le Boulevard Aléxandra près les prisons „Avéroff". Le 25 août 1905 au cours du 4me mois de sa grossesse, elle a été atteinte, pour la première fois, de fièvres sous forme tantôt quotidienne tantôt tierce, qui, après une courte remission, se sont répétées durant l'hiver sous forme irrégulière. Elle a fait usage très insuffisamment de quinine et même pendant les trois derniers mois de la grossesse elle n'a nullement pris de quinine et c'est pour cette raison que les accès continuèrent irrégulièrement jusqu'au jour de l'accouchement qui a eu lieu le 29 janvier 1906. L'ac-

couchement était normal, mais le foetus, par suite de compression probable du cordon ombilical, est né moribond et quelques minutes après est mort. Le foetus pesait 3250 grammes et était long de 50 centimètres. Le placenta, qui était d'aspect normal, pesait deux heures après l'accouchement 530 grammes. Deux heures et demie après l'accouchement nous avons pris du sang sur les deux faces du placenta, et des vaisseaux du cordon ombilical ainsi que quelques morceaux pour en faire des coupes microscopiques. Vingt-quatre heures après l'accouchement nous avons pris du sang du petit doigt de la mère étant apyrétique et nous en avons fait plusieurs préparations sèches.

Examen microscopique:

Sang de la mère. Des parasites annulaires *Praecox* rares endocellulaires, dont les uns ont des grains épais de chromatine, les autres des grains minces, leur grandeur est de $^1/_{10}$—$^1/_6$ du volume d'un globule rouge normal; rares gamètes semilunaires.

Sang du placenta. Dans le sang pris la face foetale du placenta il n'y avait que de très rares parasites (une sur chaque préparation) de forme annulaire: dans celui de la face maternelle ils étaient un peu plus nombreux, dont les uns de forme annulaire, dont quelques-uns étaient porteurs de deux grains de chromatine, les autres sphériques et de la grandeur de $^1/_2$ d'un globule rouge. Ces derniers étaient en état de multiplication (en schizogonie). Gamètes semilunaires très rares. Dans les coupes du placenta aussi bien que dans le sang du cordon ombilical nous n'avons pu trouver aucun parasite.

Examen du cadavre du nouveau-né. Autopsie faite vingt-quatre heures après la mort. Tous les organes étaient sains. Le foie pesait 135 grammes et la rate $10^1/_2$ grammes. Dans le sang du cadavre ainsi bien que dans celui du foie et de la rate nous n'avons trouvé aucun parasite, bien que nous ayons examiné plusieurs préparations. De même dans les coupes de ces viscères nous n'avons rien trouvé.

Observation VI. Laura G., âgée de 30 ans, habitant Lamia, a été atteinte pour la première fois par de fièvres palustres en 1903. L'année suivante 1904 elle a souffert durant tout l'été et l'automne de fièvres qui se continuèrent à dix ou quinze jours d'intervalle pendant l'hiver. Pour cette raison elle vint à Athènes, et y fut soumise à un traitement par la quinine, mais qui a été, paraît-il, insuffisant. Le 28 avril 1905 au cours du 5me mois de sa grossesse elle eut une petite métrorrhagie qui se répéta plusieurs fois jusqu'au 20 mai, époque ou cette femme avorta. Le foetus était mort. Quelques heures après l'avortement nous avons pris du sang de la mère, du foetus et de deux faces du placenta.

Examen microscopique:

Sang de la mère. De rares annulaires *Praecox*.

Sang du foetus. Rien.

Sang du placenta. Rien. Des coupes de ce placenta n'ont pas été faites.

Résumant les résultats de l'éxamen de ces six obsérvations nous tirons les conclusions suivantes:

A. Dans tous les cas le sang maternel contenait des parasites palustres plus ou moins abondants.

B. Dans le sang des nouveau-nés et du foetus avorté, examiné

quelques heures après l'accouchement, il n'y avait aucun parasite palustre.

Γ. Dans le sang du foie et de la rate ainsi que dans le coupes de ces organes des deux foetus autopsiés, il n'y avait pas de parasites.

Δ. Dans le sang placentaire des cinq nouveau-nés, pris sur la face maternelle, il y avait de parasites palustres en abondance et pour la plupart des formes schizogoniques, tandis que dans le sang pris sur la face foetale il n'y avait aucun parasite semblable ou bien quelques-uns très peu nombreux et de forme annulaire.

E. Dans le sang du cordon ombilical il n'y avait aucun parasite palustre.

Z. De même dans le sang du placenta du foetus avorté il n'y avait aucun parasite palustre.

Dans nos recherches microscopiques, comme on peut l'observer, se présente un étrange phénomène. Tandis que dans le sang de tous les placentas, exception faite pour celui du foetus avorté, il y avait des parasites malariques, sur coupes de ces mêmes placentas fixés et durcis soit dans l'alcool, soit dans une solution alcoolique à 10% de formol pendant 24h et puis dans l'alcool simple, nous n'avons trouvé aucun parasite palustre, malgré que nous ayons employé pour colorer les coupes différentes méthodes: comme l'hématoxyline et l'éosine, hématoxyline de Heidenhain, la méthode de Giemsa par l'azur, la méthode de Harris par le polychrome de Unna et notre propre méthode[1]).

Pour resoudre cette question nous avons mis des préparations de sang, dans les quelles on s'était assuré la présence de parasites, dans les liquides fixateurs ci-dessus durant 24 heures, et nous avons constaté que non-seulement les parasites palustres ne se coloraient plus, mais qu'en grande partie ils étaient détruits. Par suite notre insuccès de colorer ces parasites sur les coupes du placentas était dû à l'influence nuisible des liquides durcissants et non pas à leur absence réelle dans les coupes. Si maintenant l'on veut se rappeler que les parasites paludéens n'éxistaient pas dans le sang du cordon ombilical, comme l'ont démontré nos récherches, tandis qu'ils existaient souvent en très grand nombre dans le sang pris par incision de la face maternelle du placenta, on est en droit de dire que ces parasites séjournent exclusivement dans les vaisseaux de la partie maternelle du placenta et nullement dans ceux de la partie foetale du placenta. Mais l'existence de ces parasites dans le sang qui provient des vaisseaux maternels du placenta ne peut entraîner fatalement leur passage dans les vaisseaux des villosités, à savoir les vaisseaux du placenta foetal, parce que ceux-ci n'ont aucun rapport immédiat et ne s'abouchent ni avec les vaisseaux du placenta maternel ni avec les lacunes vasculaires dans lesquelles elles plongent.

La présence dans le sang du placenta maternel de nombreux parasites palustres en état de schizogonie démontre que ces parasites séjournent pendant longtemps dans le placenta et probablement dans les lacunes vasculaires, où plongent les cotylédons et où aboutissent les vaisseaux provenant de l'utérus. Ces lacunes à cause de la lenteur

---

1) Die Malaria in Athen etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906 p. 492.)

de la circulation représentent, paraît-il, un des endroits où les parasites se réfugient pour se multiplier, mais ils ne peuvent pas passer de là aux vaisseaux des villosités. Il est bien probable que quelques microbes passent à travers le placenta et infectent le foetus; mais il serait téméraire, en jugeant par analogie, d'admettre que les parasites palustres peuvent passer aussi à travers le placenta. Les globules blancs sont, comme l'on sait, attirés avec avidité vers les parasites végétaux et peuvent, en les saisissant dans les lacunes où ils se trouvent, les transporter par leur mouvements amiboïdes dans les vaisseaux des villosités, mais on ne peut endire autant pour les parasites palustres qui sont de parasites animaux par lesquels ces globules ne paraissent pas être attirés avec la même avidité au moins autant quils sont vivants. Du moins à cette conclusion nous mènent nos observations, car sur plusieurs milliers de préparations de sang contenant des parasites palustres que nous avons examínés jusqu'à present, nous n'avons vu que très peu qui fussent englobés par des globules blancs.

De tout ce qui précède nous pouvons conclure que l'opinion de ceux qui pensent que les parasites palustres ne traversent pas le placenta, est exacte.

En dehors de cela nous pouvons également dire que l'autre opinion aussi, c'est-à-dire celle de Bignami et Sereni, d'après laquelle le paludisme des mères n'influe pas sur la santé des foetus, est aussi exacte; car, d'après les observations peu nombreuses, il est vrai, que nous mentionnons ci-dessus, il est démontré que les nouveau-nés viennent au monde en état de santé florissante. Nous ne pensons pas que cela doit être attribué à la neutralisation des toxines du parasite palustre dans le placenta; parce que, comme nous venons de le voir, les parasites palustres vivent, se développent et se multiplient dans le placenta; cela est dû plutôt à la résistance naturelle que les enfants opposent à l'égard du parasite paludéen et de ses produits toxiques. Koch, comme d'ailleurs tout le monde le sait, a remarqué que la plupart des enfants indigènes de l'Afrique, bien qu'ils soient en appareuce d'une santé parfaite, portent cependant dans leur sang des parasites palustres; il conclut même de cela que ces enfants, n'ayant pas d'accès de fièvre, ne prenneant pas de quinine et deviennent, pour ainsi dire, des foyers d'où se développent pendant le printemps et l'été les fièvres palustres qui se propagent par les moustiques anophèles. Cette résistance des enfants a été observé également par d'autres; nous aussi, chez un enfant de 35 jours, d'une mère paludique, nous avons trouvé en examinant son sang de nombreux parasites *Vivax*, et pourtant cet enfant avait une santé parfaite et n'avait jamais souffert de fièvre. Il va sans dire que cet enfant n'avait pas hérité du miasme de sa mère dont le sang ne contenait que des grains noirs et non pas des parasites palustres vivants; cet enfant assurément en a été infecté après l'accouchement parce qu'il vivait lui-aussi dans le même enceinte épidémique que sa propre mère (en Aulide).

Ueber das Pneumokokkenpräzipitin.

[Institut für allgemeine Pathologie der Königl. Universität zu Bologna (Direktor: Prof. Dr. G. Tizzoni).]

Von Dr. **Luigi Panichi.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Berlin.

Wenn auch die bakteriellen Präzipitine, die wir durch die Arbeiten von Kraus (1) im Jahre 1897 über die Immunisierung gegen Cholera, Typhus und Pest kennen gelernt haben, in den folgenden Jahren Gegenstand von Untersuchungen gewesen sind, so haben sie doch in der Praxis nicht die Bedeutung gewonnen, welche die bakteriellen Agglutinine und die anderen Präzipitine des Tier- und Pflanzenreiches erlangt haben.

Auch die Forscher haben den bakteriellen Präzipitinen wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Vielleicht hat der Umstand, daß sie bei der Reaktion zwischen dem Diphtherieheilserum und dem Filtrate einer homologen Kultur (bis heute) nicht gefunden wurden, dazu beigetragen, daß man bei anderen Infektionen diesen Punkt nicht eingehender studierte.

So kommt es, daß wir heute über die bakteriellen Präzipitine nur beschränkte und unvollkommene Kenntnisse besitzen, wenn auch Marmorek (2) in Filtraten von Streptokokkenkulturen, die er auf homologes Serum einwirken ließ, die Bildung von Präzipitinen konstatiert, Wassermann (3) sich mit der Beziehung zwischen Pyocyaneus-Agglutininen und -Präzipitinen beschäftigt und Bonome (4) über Präzipitine in den Filtraten von Rotz-Bouillonkulturen berichtet hat, und, wenn man auch weiß, daß sich Präzipitine, außer bei den von Kraus angegebenen Mikroorganismen, bei verschiedenen Species der Coli-Typhusgruppe (B. coli communis Escherich, B. dysenteriae Shiga) (5, 6) finden.

Diese Meinung kann man auch nicht ändern, etwa weil Baldwin (7) Beobachtungen über eine spärliche Präzipitatbildung mitteilt, die er mit Serum und Extrakten von Tuberkelbacillen oder Lösungen von Tuberkulin erhalten hat. In der Tat könnte man in diesem Falle den Verdacht haben, den schon Norris (8) bei seiner Besprechung der Präzipitation, welche er bei Extrakten von Pneumokokkenkulturen erhielt, ausgesprochen hat; er sagt nämlich folgendes: „He leaves it uncertain wether one substance induces both reactions, as Kraus first claimed, or wether two distinct substances which are formed simultaneously in the serum induce these phenomena.“ Es erscheinen mir also sowohl für die Tuberkelbacillen als auch für den Pneumococcus die von Neufeld (9) berichteten und von Wadsworth (10) bestätigten Tatsachen nicht beweisend zu sein, nach deren Ansicht man Präzipitine erhielt, wenn man Galle auf eine Pneumokokkenkultur einwirken ließ und Filtrate von Extrakten in Salzlösungen verwandte.

Andererseits konnte derselbe Norris (11) kein Entstehen von Präzipitaten oder auch nur einer einfachen Trübung (cloudiness) beobachten, wenn er Serum von Kaninchen, die mit dem Pneumococcus geimpft waren, mit dem entsprechenden Filtrate zusammenbrachte.

Bei der Spärlichkeit der Untersuchungen über die bakteriellen Präzipitine im allgemeinen und des Pneumokokkenpräzipitin im besonderen, habe ich die Untersuchung der Präzipitationserscheinung mit dem von Prof. G. Tizzoni hergestellten antipneumonischen Serum wiederholt, da ich die günstige Gelegenheit hatte, seine biologischen Eigenschaften zu studieren (worüber ich in einer anderen Arbeit berichten werde).

Sehr schön erhielt man ein Präzipitat, wenn man das Serum von Tieren, die einer Vaccination mit einer Pneumokokkenkultur (in unserer Bouillon) unterzogen worden waren, zu dem Filtrate einer homologen Kultur hinzufügte, die sich in unserer oder in Bouillon von der gewöhnlichen Zusammensetzung entwickelt hatte. Der Versuch gelang immer, wenn man Kaninchen-, Hammel- oder Eselserum verwandte.

Der Grad der Reaktion kann ein verschiedener sein, und man erhält daher ein Präzipitat von verschiedenem Aussehen. Ist es sehr stark und tritt es sehr rasch auf, fast unmittelbar nachdem man das Serum dem Filtrat hinzugesetzt hat, so wird die Flüssigkeit opaleszierend. Es dauert nicht lange, so kann man kleine Flocken unterscheiden, die dann größer werden und sich am Boden des Röhrchens ablagern; hier bilden sie eine Membran, ein Häutchen, das fest zusammenhängend bleibt, auch wenn man die Flüssigkeit schüttelt; letztere ist wieder kristallklar geworden. Erreicht die Reaktion nicht einen so starken Grad, wie ich es eben erzählt habe, so bilden sich kleine Flocken und Körnchen, manchmal ist es nur ein feiner Staub, der vom Boden des Röhrchens aufgewirbelt, die Flüssigkeit, von der er sich getrennt hat, trübt.

Bei den geringsten Graden erkennt man die Reaktion nur an der Opaleszenz, die das Filtrat nach der Hinzufügung des Serums annimmt. Uebrigens kann das Filtrat selbst, namentlich wenn es im Brutschranke bei 37° gehalten wird, etwas trübe und opalfarben werden; um in einem solchen Falle das Eintreten der Präzipitationsreaktion festzustellen, muß man sich ein Kontrollröhrchen, welches nur das Filtrat allein enthält, herstellen und mit diesem das andere Röhrchen, in dem sich Filtrat und Serum befindet, vergleichen.

Die Präzipitation wird durch eine Temperatur von 37° begünstigt, vollzieht sich aber auch bei der gewöhnlichen Temperatur der Umgebung. Sie tritt rasch in Flüssigkeiten mit reichem Präzipitingehalt ein, und langsam in solchen, die weniger Präzipitin enthalten. In jedem Falle ist der Vorgang in 24—48 Stunden beendet.

Der Präzipitationswert, den ich bis jetzt bei meinen Untersuchungen gefunden habe, überschreitet nicht das Verhältnis von 1 : 60. Die Verdünnung des Serums, das in diesen Fällen dem Filtrate hinzuzufügen ist, muß man mit physiologischer Kochsalzlösung vornehmen.

Die Anwesenheit von Präzipitin konnte ich auch mittelst des antipneumonischen Serums von Pane (welches bei einer Probe mit Trikresol nrcht reagiert nachweisen.

Die Reaktion fiel negativ aus, als ich das Römersche antipneumonische Serum verwandte, von dem ich nur eine einzige Probe besaß.

Diesen wenigen, nur summarisch berichteten Tatsachen, hoffe ich in kurzem weitere hinzufügen zu können, da ich die Untersuchungen über das Pneumokokkenpräzipitin weiter ausgedehnt habe.

In meiner nächsten Arbeit werde ich mich mit dem Pneumokokkenpräzipitin in Beziehung zu den verschiedenen Phasen der den Tieren

verliehenen Immunität und der Agglutinations- und Heilkraft ihres Serums besonders beschäftigen.

Bologna, Maggio 1906.

Literatur.

1) Kraus, R., Ueber spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten etc. (Wiener klin. Wochenschr. 1897. 30. April, 12. Aug.)
2) Marmorek, Zit. von Tschistowitsch in seiner Arbeit: Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguilles. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 414.)
3) Wassermann, Ueber Agglutinine und Präzipitine. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903. Heft 2.)
4) Bonome, Ueber die Schwankungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion. (Atti del R. Istituto Veneto di scienze etc. Vol. LXIV. p. 1132.)
5) Norris, C., The bacterial precipitins. (The Journ. of infect. disease. Vol. I. No. 3).
6) Dopter, Ch., Précipitines spécifiques dans le sérum antidysenterique. (Soc. de Biol. T. LIX. No. 24.)
7) Baldwin, E. R., Antituberculin or precipitin serums. (Journ. of med. Research. Vol. XII. 1904.)
8) Norris, l. c. p. 505.
9) Neufeld, Ueber die Agglutination der Pneumokokken und über die Theorieen der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 54.)
10) Wadsworth, A., The agglutination of the pneumococcus with certain normal and immune sera. (Journ. of med. Research. Vol. X. 1903. No. 2.)
11) Norris, l. c. p. 503.

Versuche über die Wirkung der Leukocyten bei intraperitonealer Cholerainfektion.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. (Vorstand: Prof. Hueppe).]

Von Dr. **Edmund Weil**, Assistenten am Institute.

In den nachfolgenden Versuchen soll die Wirkung eines bakteriziden Choleraimmunserums, welches in seiner Funktion, Vibrionen aufzulösen, behindert ist, untersucht werden. Die bakteriolytische Wirkung eines Choleraimmunserums in der Bauchhöhle von Meerschweinchen (Pfeiffersches Phänomen) beruht, wie zuerst auf französischer Seite (Metschnikoff, Bordet) festgestellt wurde, auf dem Zusammenwirken zweier Komponenten, von denen jeder gesondert diese Fähigkeit nicht besitzt. Diese beiden Komponenten sind der durch den Immunisierungsprozeß im Uebermaß erzeugte bakterizide Immunkörper (Ambozeptor) und das im Körper normaler Tiere vorhandene Komplement (Alexin). Während ersterer die Bakterien für Aufnahme des Komplementes geeignet macht, ist letzteres erst im stande, die Bakterienzelle aufzulösen, eine Tatsache, die durch die bekannten Untersuchungen von Ehrlich und Bordet festgestellt wurde. Betreffs der bakteriolytischen Reaktion im Tierkörper gehen jedoch die Ansichten auseinander.

Ehrlich und seine Anhänger und insbesondere Pfeiffer glauben, daß das Komplement frei in den Gewebssäften kreist, so daß der mit den Bakterien eingeführte spezifische bakterizide Immunkörper dasselbe sofort vorfindet und zur Auflösung der Bakterien verwenden kann.

Metschnikoff jedoch nimmt an, daß das Komplement sich ausschließlich in den Leukocyten findet und nur unter ganz bestimmten Umständen, wenn z. B. die Leukocyten eine Schädigung erleiden, in die umgebende Flüssigkeit übertreten kann. Die Konsequenz, die Metschnikoff aus seiner Auffassung ziehen mußte und auch zog, war die, daß die Bakteriolyse im Tierkörper nur unter gewissen Bedingungen auftreten konnte. Das Pfeiffersche Phänomen erklärt Metschnikoff dadurch, daß durch die Einspritzung von Choleravibrionen in die Peritonealhöhle von Meerschweinchen die im Bauchraume angesammelten Leukocyten zerstört werden (Phagolyse), wodurch dann Komplement frei wird und zur Komplettierung des mit den Vibrionen eingespritzten Immunkörpers benutzt werden kann. Deshalb werden die Vibrionen in der freien Bauchhöhle aufgelöst. Metschnikoff hat weiter behauptet, daß dort, wo Phagolyse nicht eintritt, es auch nicht zur Ausbildung des Pfeifferschen Phänomens kommen kann, wie z. B. in der Subcutis. Letzteres hat aber Pfeiffer dadurch bestritten, daß er angibt, daß das Pfeiffersche Phänomen im subkutanen Gewebe zwar verspätet, aber doch eintritt. Daß Bakteriolyse in den Organen nicht auftritt, hat Bail nachgewiesen. Metschnikoff hat weiter versucht, die Ausbildung des Pfeifferschen Phänomens in der Bauchhhöhle von Meerschweinchen zu unterdrücken, indem er durch Verhinderung der Phagolyse den Austritt von Komplement verhindert hat. Er ging dabei so vor, daß er durch Injektion von Bouillon in die Bauchhöhle von Meerschweinchen Leukocyten ansammelte, welche gegenüber einer am folgenden Tage vorgenommenen Infektion mit Choleravibrionen resistent waren und nicht oder nur in geringem Grade zerstört wurden. In jenen Fällen, wo die Phagolyse ausblieb, kam es auch nicht zur Granulabildung, sondern die mit Immunserum eingespritzten Vibrionen wurden von den bis zur dicken Eiterbildung angesammelten Leukocyten phagocytiert und in ihnen aufgelöst. Diese Versuchsanordnung ist unter dem Namen des Metschnikoffschen Versuches bekannt. Die Richtigkeit des Metschnikoffschen Versuches wurde von Pfeiffer nicht anerkannt. In neuerer Zeit hat aber Bail den Metschnikoffschen Versuch dahin bestätigt, daß er den Eindruck bekam, daß bei Meerschweinchen mit eitriger Bauchhöhle nicht die Bakteriolyse das Ueberstehen der Infektion ausmache, sondern daß sich derartige Tiere durch Phagocytose der Vibrionen entledigen.

Während also Pfeiffer behauptet, daß ein choleraimmunes Tier nur dadurch, daß es durch die in den Säften vorhandenen bakteriolytischen Immunstoffe die Vibrionen in den Säften auflöst, am Leben bleiben kann, nimmt Metschnikoff an, daß die Auflösung der Vibrionen nur dann auftreten und das Tier retten kann, wenn, wie z. B. in der Bauchhöhle, freies Komplement vorhanden ist. Sind jedoch diese günstigen Bedingungen nicht gegeben, so können nur die Leukocyten unter dem Einfluß des Immunserums durch Phagocytose das Tier schützen.

Durch die Arbeiten der neuesten Zeit, die hauptsächlich im Pfeifferschen Institute von Moreschi ausgeführt wurden, wurde im Anschluß an die Arbeiten früherer Autoren gezeigt, daß Eiweißpräzipitation zur Komplementfixierung führe; Wassermann und Bruck haben die Untersuchungen Moreschis auf Bakterienbestandteile angewendet, indem sie nachwiesen, daß Bakterienextrakte mit dem entsprechenden Immunserum ebenfalls Komplement binden. Bail und

Weil haben in einem anderen Zusammenhange nachgewiesen, daß Choleravibrionenextrakte Choleraimmunserum unwirksam machen, indem die Bakteriolyse im Meerschweinchenperitoneum ausblieb, so daß die betreffenden Tiere an Vibrionenvermehrung eingingen.

Pfeiffer hat nun in Gemeinschaft mit Moreschi gezeigt, daß Eiweißpräzipitation (Menschenserum + Menschenantiserum) ebenfalls ein Choleraimmunserum in der Meerschweinchenbauchhöhle bakteriolytisch unwirksam machte, und kommt dabei zu dem Schlusse, daß für diese Erscheinung weder Antiambozeptoren noch Antikomplemente in Betracht kommen können, sondern daß ausschließlich die Bildung des Präzipitats das in der Bauchhöhle vorhandene Komplement absorbiere, so daß die mit dem Immunserum eingebrachten Vibrionen wegen Komplementmangel nicht aufgelöst werden können. Wir besitzen also in der Präzipitation, wie aus diesen Untersuchungen hervorgeht, ein sicheres Mittel, um im Tierkörper vorhandenes freies Komplement von seiner Wirkung auszuschalten, und können demnach untersuchen, ob ein bakteriolytisches Immunserum im Tierkörper noch eine andere Funktion ausüben kann, als Bakterien aufzulösen. Die Untersuchungen von Metschnikoff geben uns einen Hinweis auf die Bearbeitung dieser Frage.

Der Wert der Leukocyten für die bakterielle Infektion ist heute noch eine vielumstrittene Frage, und besonders von Pfeiffer und seinen Anhängern wird den Leukocyten keine oder nur eine ganz untergeordnete Bedeutung zugeschrieben. Wir stellten es uns zur Aufgabe, die Rolle zu untersuchen, welche Leukocyten und Immunserum in einem Raum spielen, der an Komplement verarmt ist, einer Substanz, welcher die ausschlaggebende Bedeutung zukommt für die erfolgreiche Wirkung eines bakteriziden Immunserums, um Bakterien aufzulösen. Denn Immunserum ohne Komplement bleibt auf Bakterien wirkungslos.

Als Versuchsobjekt wurde die Meerschweinchenbauchhöhle gewählt. Durch 2malige in Intervallen von 10 Stunden ausgeführte intraperitoneale Injektion von frischer, auf 37° C vorerwärmter Bouillon wurden Leukocyten in der Bauchhöhle angesammelt, so daß die vor der Infektion entnommene Bauchhöhlenflüssigkeit dick trüb war. Für die Komplementbindung wurde ein Choleravibrionenextrakt auf die Weise hergestellt, daß die Bakterienmasse einer Kolleschen Schale mit 10 ccm destilliertem Wasser abgespült und hierauf $1^1/_2$—2 Stunden auf 60° C erhitzt wurde. Die Bakterien wurden hierauf durch Zentrifugieren vollständig entfernt und zur klaren Flüssigkeit NaCl bis zum Gehalt der physiologischen Lösung zugesetzt. Mit dem Extrakte wurden nun Präzipitations- und Komplementbindungsversuche angestellt.

Tabelle I.

Extrakt	Immunserum	2 Stunden bei 37° C
0,5	0,1	starker Bodensatz
0,5	0,01	geringer Bodensatz, in der überstehenden Flüssigkeit kleine Flocken
0,5	0,001	klar
0,5	0,0001	„
0,5	1,00001	„
0,5	0,00001	„

Tabelle II.

Cholera-extrakt	Cholera-immunserum	Komplement (Meer-schweinchen-serum)		Hämo-lytischer Ambo-zeptor	Blut-körperchen 5 Proz. (Rind)	2 Stunden bei 37 ° C, hierauf 24 Stunden in der Kälte
0,05	0,01	0,1	1 Stunde bei 37 ° C	0,005	1	vollkommen ungelöst
0,01	0,01	0,1		0,005	1	vollkommen ungelöst
0,005	0,01	0,1		0,005	1	vollkommen ungelöst
0,001	0,01	0,1		0,005	1	Hemmung
0,05	—	0,1		0,005	1	komplett gelöst
—	0,01	0,1		0,005	1	"
—	—	0,1		0,005	1	"
—	—	0,1		—	1	θ
—	—	—		0,005	1	θ

Aus Tabelle I geht hervor, daß der Choleraextrakt mit dem Choleraimmunserum Präzipitation gibt und aus Tabelle II, daß ziemlich hohe Verdünnungen des Extraktes mit dem Immunserum zusammen Meerschweinchenkomplement absorbieren. Die Ursache für die Komplementbindung kann in diesem Falle entweder nach der Annahme von Moreschi die Präzipitation[1]) sein, oder wer die Anschauung von Wassermann und Bruck teilt, kann annehmen, daß die in unserem Extrakte sich befindlichen „freien Rezeptoren" sich mit den Ambozeptoren des Choleraimmunserums verbinden und dadurch Komplement verankern, eine Anschauung, die wir nicht teilen, weil die Extraktbestandteile gar keine Verbindung mit den Ambozeptoren eingehen. Daß derartige Extrakte die Reagenzglasbakteriolyse behindern, haben bereits Bail und Kikuchi gezeigt und, wie bereits oben erwähnt, war dies auch bereits für die Meerschweinchenbauchhöhle nachgewiesen.

Die Versuchsanordnung wurde, wie aus den nachfolgenden Protokollen hervorgeht, so gewählt, daß immer ein Tier Immunserum allein, ein zweites Immunserum + Extrakt (komplementbindendes System), vor der Injektion gemischt, und ein drittes Tier, welches, wie oben erwähnt, mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt war[2]), ebenfalls Immunserum + Extrakt (komplementbindendes System) erhielt. Das zu diesen Versuchen verwendete Immunserum schützte in der Dosis von 0,0001 gegen 1 Oese[3]) Cholera. Die verwendete Kultur ist die typische Cholera Pfeiffer. Ihre Virulenz betrug zur Zeit, als diese Versuche angestellt wurden, $^1/_{10}$ Oese für ein Meerschweinchen von ca. 250 g.

1) Es sei darauf hingewiesen, daß Moreschi diese seine in mehreren Arbeiten vertretene Anschauung, der auch Pfeiffer und Friedberger zustimmen, welch letzterer angibt, daß nur die Bedingungen der Präzipitation vorhanden sein müssen, nicht einmal die sichtbare Ausfällung, um Komplement zu binden, auf Grund neuerer Versuche mit „Vogelpräzipitin" als vollständig unrichtig widerruft (Ref. aus der freien Vereinigung f. Mikrobiologie in Berlin.)

2) Die Infektion wurde stets 14 Stunden nach der 2. Bouilloneinspritzung vorgenommen, so daß in der Bauchhöhle 24 Stunden alter, nur aus polynukleären Leukocyten bestehender Eiter war.

3) 6 Oesen = eine vollbewachsene schräge Agarkultur.

Versuch I.

Meerschweinchen 1. 225 g. 2,5 NaCl + 0,0005 Immunserum intraperitoneal. Nach $^1/_2$ Stunde 1 Oese Cholera.

Nach 5 Minuten. $^2/_3$ Granula, $^1/_3$ Vibrionen.

Nach 30 Minuten. Massenhaft Granula, ungemein spärliche Vibrionen.

Nach 50 Minuten. Nur noch spärliche Granula.

Nach 2 Stunden. Keine Granula. Zahlreiche Leukocyten.

Meerschweinchen 2. 265 g. 2,5 Extrakt + 0,0005 Immunserum intraperitoneal. Nach $^1/_2$ Stunde 1 Oese Cholera.

Nach 5 Minuten. Aeußerst spärliche Granula, zahlreiche Vibrionen.

Nach 30 Minuten. Massenhaft lebhaft bewegliche Vibrionen, äußerst spärliche Granula.

Nach 50 Minuten. Massenhaft Vibrionen, keine Granula.

Nach 2 Stunden. Massenhaft Vibrionen, keine Granula.

Stirbt nach 11 Stunden. In der Bauchhöhle finden sich massenhaft Vibrionen, keine Zellen, keine Auflagerungen. Schwerste Infektion. Aus 1 Oese Herzblut zusammenhängender Rasen.

Meerschweinchen 3. 240 g. Durch 2malige intraperitoneale Bouilloninjektion vorbehandelt.

2,5 Extrakt + 0,0005 Immunserum intraperitoneal. Nach $^1/_2$ Stunde 1 Oese Cholera.

Nach 5 Minuten. Zahlreiche Leukocyten mit nur Vibrionenphagocytose, zahlreiche freie Vibrionen, äußerst spärliche Granula.

Nach 20 Minuten. Alle Leukocyten dicht erfüllt teils von Vibrionen, teils von Granula. Zahlreiche freie Vibrionen, keine Granula.

Nach 30 Minuten. Alle Leukocyten voll von Granula und Vibrionen, wenige freie Vibrionen, keine Granula.

Nach 50 Minuten. Starke Granulaphagocytose, noch immer freie Vibrionen, keine Granula.

Nach 2 Stunden. Phagocytose wie früher. Noch sehr spärliche freie Vibrionen, keine Granula.

Nach 4 Stunden. Vibrionen und Granula nur in Phagocyten, keine freien Vibrionen, keine Granula.

Tier bleibt dauernd, ohne Krankheit, am Leben.

Versuch II.

Meerschweinchen 4. 240 g. 2,5 NaCl + 0,001 Immunserum intraperitoneal. Nach $^1/_2$ Stunde 1 Oese Cholera.

Sofort. Zahlreiche Granula, zahlreiche unbewegliche Vibrionen.

Nach 30 Minuten. Nur noch spärliche Granula, keine Vibrionen.

Nach 3 Stunden. Zahlreiche Leukocyten, keine Granula.

Meerschweinchen 5. 260 g. 2,5 Extrakt + 0,001 Immunserum intraperitoneal. Nach $^1/_2$ Stunde 1 Oese Cholera.

Sofort. Spärliche Granula, massenhaft lebhaft bewegliche Vibrionen.

Nach 30 Minuten. Zahlreiche lebhaft bewegliche Vibrionen, daneben spärliche Granula.

Nach 1 Stunde. Massenhaft bewegliche Vibrionen, sehr spärliche Granula.

Nach 3 Stunden. Massenhaft Vibrionen.

Stirbt nach 11 Stunden. Im Bauchhöhlenexsudate keine Zellen, massenhaft Vibrionen, nirgends Auflagerungen. Schwerste Infektion. Aus 1 Oese Herzblut geht auf Agar zusammenhängender Bakterienrasen auf.

Meerschweinchen 6. 235 g. Wie im vorigen Versuche intraperitoneal mit Bouillon vorbehandelt.

2,5 Extrakt + 0,001 Immunserum intraperitoneal. Nach $^1/_2$ Stunde 1 Oese Cholera.

Sofort. Massenhaft Leukocyten, zahlreiche lebhaft bewegliche Vibrionen, spärliche Granula.

Nach 15 Minuten. Leukocyten mit starker Phagocytose von Vibrionen und Granula, zahlreiche freie bewegliche Vibrionen, spärliche Granula.

Nach 45 Minuten. Leukocyten ganz voll von Vibrionen und Granula, keine freien Vibrionen, keine Granula.

Tier stets munter, bleibt dauernd am Leben.

Versuch III.

Meerschweinchen 7. 235 g. 2 NaCl + 0,01 Immunserum intraperitoneal. Nach 1/2 Stunde 1 Oese Cholera intraperitoneal.

Nach 10 Minuten. Massenhaft Granula, einzelne Vibrionen.

Nach 20 Minuten. Nur Granula, keine Vibrionen.

Nach 30 Minuten. Keine Granula, keine Vibrionen.

Nach 2 Stunden. Zahlreiche Leukocyten.

Meerschweinchen 8. 230 g. 2 Extrakt + 0,01 Immunserum intraperitoneal. Nach 1/2 Stunde 1 Oese Cholera.

Nach 10 Minuten. Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen.

Nach 20 Minuten. Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen.

Nach 1 Stunde. Weniger Granula, sehr zahlreiche Vibrionen.

Nach 2 Stunden. Zahlreiche Granula, weniger Vibrionen.

Nach 5 Stunden. Keine Vibrionen, noch zahlreiche Granula, zahlreiche Leukocyten.

Tier nachmittags krank, am nächsten Tage erholt, bleibt schließlich am Leben.

Meerschweinchen 9. 225 g. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt. 2 Extrakt + 0,01 Immunserum intraperitoneal. Nach 1/2 Stunde 1 Oese Cholera.

Nach 10 Minuten. Zahlreiche Leukocyten, sonst nichts zu finden.

Nach 20 Minuten. Massenhaft Leukocyten, sonst nichts zu finden.

Nach 1 Stunde neuerliche Injektion von 2 Oesen Cholera.

Nach 5 Minuten. Ebenfalls alle Vibrionen verschwunden.

Wird getötet und es finden sich in den Leukocyten von Eiterflocken zahlreiche phagocytierte Granula, freie Vibrionen und Granula sind nirgends zu finden.

Versuch IV.

Meerschweinchen 10. 230 g. 0,005 Immunserum subkutan. Nach 16 Stunden 1 Oese Cholera.

Nach 5 Minuten. Zahlreiche Granula, zahlreiche Vibrionen.

Nach 20 Minuten. Massenhaft Granula, spärliche Vibrionen.

Nach 1 Stunde. Nur Granula, keine Vibrionen.

Nach 2 Stunden. Zahlreiche Leukocyten, keine Granula.

Meerschweinchen 11. 250 g. 0,005 Immunserum subkutan; nach 16 Stunden 2,5 Extrakt intraperitoneal. Nach 1/2 Stunde 1 Oese Cholera.

Nach 5 Minuten. Spärliche Granula, massenhaft Vibrionen.

Nach 20 Minuten. Zahlreiche, lebhaft bewegliche Vibrionen, spärliche Granula.

Nach 40 Minuten. Wie vorher.

Nach 1 Stunde. Neben zahlreichen Vibrionen zahlreiche Granula.

Nach 2 Stunden. Spärliche Granula, zahlreiche Vibrionen.

Nach 4 Stunden. Wenige Vibrionen, keine Granula.

Nach 9 Stunden. Massenhaft Vibrionen, keine Granula, keine Leukocyten.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. In der Bauchhöhle zahlreiche Vibrionen, jedoch nicht so massenhaft wie in den früheren Versuchen. Wenige Zellen. Einige eitrige Auflagerungen auf der Leber. Aus 1 Oese Herzblut gehen massenhaft Kolonieen auf, bilden jedoch keinen zusammenhängenden Rasen.

Meerschweinchen 12. 235 g. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt. 0,005 Immunserum subkutan; nach 16 Stunden 2,5 Extrakt intraperitoneal. Nach 1/2 Stunde 1 Oese Cholera.

Nach 5 Minuten. Massenhaft Vibrionen, sehr spärliche Granula, starke Phagocytose.

Nach 30 Minuten. Zahlreiche Vibrionen, keine Granula, starke Phagocytose.

Nach 1 Stunde. Wie vorher.

Nach 2 Stunden. Deutliche Abnahme der Vibrionen, keine Granula, starke Phagocytose.

Nach 3 Stunden. Alle Leukocyten von Vibrionen und Granula vollgestopft, keine freien Vibrionen, keine Granula.

Tier bleibt am Leben.

Meerschweinchen 13. 260 g. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt (Kontrolle).

2,5 Extrakt intraperitoneal. Nach 1/2 Stunde 1 Oese Cholera.

Nach 5 Minuten. Massenhaft Vibrionen, äußerst spärliche Granula, geringe Phagocytose.

Nach 30 Minuten. Wie vorher.

Nach 1 Stunde. Ebenso und Abnahme der Leukocyten.

Nach 2 Stunden. Vibrionen vermehrt, Leukocyten in Abnahme.

Nach 4 Stunden. Massenhaft Vibrionen.

Nach 6 Stunden. Neben massenhaften Vibrionen wieder zahlreiche Leukocyten mit geringer Phagocytose.

Nach 22 Stunden. Neben zahlreichen Leukocyten zahlreiche Vibrionen.

Stirbt nach 27 Stunden. In der Bauchhöhle eitriges Exsudat mit zahlreichen Vibrionen. Manche Leukocyten weisen starke Phagocytose von Vibrionen und Granula auf. Eitrige Auflagerungen auf Leber, Netz und Darm.

Zunächst entnehmen wir aus diesen Versuchen, daß die Wirkung des Extraktes bei hohen Dosen von Immunserum (Versuch III) teilweise versagt, indem die Bakteriolyse im Vergleich zum Immuntier nur verlangsamt ist und sich auf längere Zeit hinzieht. Bei mittleren und kleineren Mengen von Immunserum (Versuch I, II) jedoch ist die Komplementbindung durch den Extrakt voll ausgesprochen. Wir merken in solchen Versuchen, daß die Bakteriolyse ganz unvollständig ist oder vollkommen fehlt, daß in kurzer Zeit die Vibrionenmenge so überhand nimmt, daß das Tier der fortschreitenden Vermehrung erliegt. Es gelingt also, wenn wir diese Versuche mit denen von Pfeiffer in Parallele setzen, tatsächlich, durch das Extrakt-Immunserumgemisch das in der Bauchhöhle vorhandene Komplement wegzuschaffen, so daß der mit dem Immunserum eingespritzte Immunkörper in der Bauchhöhle nicht reaktiviert werden kann, so daß seine Wirksamkeit in Bezug auf Vibrionenauflösung ausbleibt.

Wäre nun die Funktion des Immunserums Vibrionen aufzulösen die einzige, so müßten Tiere mit fehlendem Komplement trotz der Anwesenheit von Leukocyten zu Grunde gehen; denn der anwesende Immunkörper kann ohne Komplement keine Wirkung entfaften, die Bedeutung der Leukocyten ist nach Pfeiffer eine ganz untergeordnete; denn selbst in den Leukocyten kann nach diesem Autor nur dann eine Auflösung von Vibrionen erfolgen, wenn sie mit den Serumbakteriolysinen (Immunkörper + Komplement) in Verbindung getreten sind. Wir sehen aber in unseren Versuchen genau das Gegenteil eintreten. Besonders stark zeigt die Leukocytenwirkung Versuch III. Wie aus dem Protokolle ersichtlich ist, waren nach der ersten Einspritzung die Vibrionen sofort spurlos verschwunden, so daß an einen Versuchsfehler gedacht und eine zweite Infektion vorgenommen wurde. Aber auch die Vibrionen der zweiten Infektion verschwanden sofort und konnten erst spurenweise im getöteten Tiere aufgefunden werden, und zwar in Leukocyten von Eiterflocken. Man könnte angesichts dieses Versuches vielleicht daran denken, daß die Vibrionen, wie dies bei großen Immunserummengen der Fall ist, ungemein rasch in der freien Bauchhöhlenflüssigkeit aufgelöst wurden. Dagegen sprechen aber mit Sicherheit mehrere Momente. Erstens zeigt das Immuntier durch 30 Minuten Granula in der Bauchhöhlenflüssigkeit, wo doch genügend freies Komplement vorhanden ist, hingegen zeigt das mit Extrakt behandelte Tier infolge Komplementmangels Vibrionenreste durch 5 Stunden. Noch größer aber muß der Komplementmangel im Leukocytentiere sein, einmal, weil in einer eitrigen Bauchhöhle wenig freies Komplement vorhanden ist (Metschnikoffscher Versuch) und dann, weil überdies noch durch den Extrakt Komplement zerstört wurde[1]). Wir können aus diesem Versuche den

1) Die Versuche von Pettersson, welcher annimmt, daß die Anwesenheit von Leukocyten in der Bauchhöhle vermehrten Komplementzufluß bedinge, können mit den unsrigen nicht verglichen werden. Denn während in unseren Versuchen sich Leukocyten in der Bauchhöhle ansammeln, spritzt Pettersson Leukocyten in die Bauchhöhle ein. Die Beobachtung von Pettersson, daß nach solchen Injektionen

Schluß ziehen, daß das Immunserum, welches auf die Bacillen eingewirkt hat, dieselben geeignet macht, rapide von den Leukocyten aufgenommen und in ihrem Innern zerstört zu werden, ohne wesentliche Mitwirkung von freiem Komplement. Die Richtigkeit dieser Anschauung beweisen auch die gleich zu besprechenden weiteren Versuche.

Es sei nur hier auf die große Aehnlichkeit dieses Versuches (III) mit der aktiven Aggressinimmunität bei Typhus, wie sie Bail uns bei Coli, wie sie Salus beschrieben hat, und deren Verlauf wir zu beobachten Gelegenheit hatten, hingewiesen. Die eingespritzten Typhus- und Coli-Bacillen verschwanden sofort nach der Injektion und wurden, denn an eine so rasche Bakteriolyse konnte wohl bei Typhus und Coli nicht gedacht werden, von Salus, der ein Tier tötete, wie in unserem Versuche in Leukocyten von Eiterklumpen phagocytiert aufgefunden. Auch Kikuchi hat ähnliche Beobachtungen bei der Dysenterieimmunität gemacht. Die leukocytäre Tätigkeit ist eben bei der Aggressinimmunität besonders stark ausgesprochen.

In den Versuchen mit mittleren Mengen von Immunserum läßt sich der Einfluß der Leukocyten bei Komplementmangel genauer studieren. Wir sehen im Versuch II, daß die Vibrionen bei spärlicher Granulabildung verhältnismäßig rasch von den Leukocyten aufgenommen und zerstört werden; daß das zur Bakterienauflösung nötige Komplement nicht ausreicht, sehen wir an Meerschweinchen 5, welches an fortschreitender Vibrionenvermehrung zu Grunde geht; im Versuch I, bei geringerer Menge von Immunserum, verlaufen die Verhältnisse beim Leukocytentier entsprechend langsamer. Während das Extrakttier ohne Bakteriolyse stirbt, werden infolge der geringeren Menge von Immunserum die Vibrionen von den Leukocyten beim Leukocytentier langsamer aufgenommen. Granulabildung fehlt hier fast vollständig. Der Infektionsverlauf dieses Tieres bildet den Uebergang zur nicht spezifischen künstlichen Resistenz, wo sich die Vibrionen durch viele Stunden in der Bauchhöhle halten, bis sie schließlich den Leukocyten zur Beute fallen.

Es kann also für das Ueberleben der Leukocytentiere in unseren Versuchen nur die Anwesenheit der Leukocyten verantwortlich gemacht werden, welche die mit Immunserum beladenen Bakterien leicht aufnehmen und auflösen. Wir wollen nicht entscheiden, welche Rolle die Opsonine dabei spielen. So viel ist aber sicher, daß die Wirkung der Serumbakteriolysine, wie es Pfeiffer annimmt, in den Leukocyten ausgeschlossen ist. Denn der Immunkörper allein löst keine Bakterien auf und Komplement bringen die von Leukocyten aufgenommenen Vibrionen nicht mit. Man müßte dann mit Metschnikoff annehmen, daß Komplement (Mikrocytase) in den Leukocyten vorhanden ist. Dann muß man aber auch die große Bedeutung der Leukocyten für die Zerstörung der Choleravibrionen anerkennen.

Aus Versuch IV, wo das Immunserum vorzeitig und subkutan injiziert wurde, entnehmen wir, daß es auch bei dieser Versuchsanordnung gelingt, einerseits Komplement durch den Extrakt zu binden, andererseits auch die vollendete Leukocytenwirkung zu beobachten. Der Ver-

die Bauchhöhlenflüssigkeit und dadurch der Komplementgehalt vermehrt ist, trifft für die Versuche, wo man durch Bouilloninjektionen Eiter in der Bauchhöhle ansammelt, gewöhnlich nicht zu, denn, wenn man solche Tiere behufs Leukocytengewinnung tötet, ist meistens kein freies Exsudat vorhanden, so daß man gezwungen ist, die Bauchhöhle auszuspülen. Dasselbe hat übrigens Pettersson bei Injektion von Serum ohne Leukocyten beobachtet.

lauf ist jedoch bei allen Tieren verlangsamt, denn wir wissen ja, daß bakterizides Immunserum, subkutan injiziert, viel schwächer wirkt. In diesem Versuche ist auch ein Kontrolltier ohne Immunserum, um zu zeigen, daß die nicht spezifische Resistenz gegenüber 1 Oese versagt oder doch große Differenzen gegenüber Tieren zu Tage treten, welche gleichzeitig Immunserum bekommen haben.

Es war noch der Versuch von Interesse, wie sich der Extrakt und die Leukocyten gegenüber sensibilisierten Bakterien verhalten. Zu dem Zwecke wurden 3 Oesen Cholera in der Immunserumverdünnung 1 : 100 aufgeschwemmt, 1 Stunde bei 37° C belassen, hierauf 5mal gewaschen, um die letzten Reste von Immunserum aus der Waschflüssigkeit zu entfernen. Das Zentrifugieren ging stets wegen der immer eintretenden Reagglutination sehr rasch, so daß die Vitalität der Choleravibrionen keine Einbuße erlitt. Jedes Tier erhielt, wie aus dem folgenden Protokoll zu ersehen ist, den dritten Teil der mit Immunserum behandelten Vibrionen, also 1 Oese.

Versuch V.

Meerschweinchen 14. 230 g. 1 Oese sensibilisierte Vibrionen.
Nach 10 Minuten. Zahlreiche Granula, nicht sehr zahlreiche gequollene Vibrionen.
Nach 30 Minuten. Massenhaft Granula, spärliche Vibrionen.
Nach 1 Stunde. Noch immer zahlreiche Granula. keine Vibrionen.
Nach 2 Stunden. Wie vorher.
Nach 4 Stunden. Zahlreiche Leukocyten, keine Granula.

Meerschweinchen 15. 220 g. 2,5 Extrakt intraperitoneal; nach 1/2 Stunde 1 Oese sensibilisierte Vibrionen.
Nach 10 Minuten. Zahlreiche Granula, zahlreiche unbewegliche Vibrionen.
Nach 30 Minuten. Massenhaft Granula, spärliche Vibrionen.
Nach 1 Stunde. Sehr zahlreiche Granula, keine Vibrionen.
Nach 2 Stunden. Noch zahlreiche Granula, keine Vibrionen.
Nach 4 Stunden. Zahlreiche Leukocyten, keine Granula.

Meerschweinchen 16. 220 g. Intraperitoneal mit Bouillon behandelt. 2,5 Extrakt; nach 1/2 Stunde 1 Oese sensibilisierte Vibrionen.
Nach 10 Minuten. Massenhaft Leukocyten, keine Vibrionen, keine Granula, keine Phagocytose.
Nach 20 Minuten. Wie vorher.
Nach 1 Stunde. Dasselbe.

Dieser Versuch zeigt, daß der Extrakt gegenüber sensibilisierten Bakterien wirkungslos ist; denn es ist in dieser Versuchsanordnung die Ausbildung einer Präzipitation in der Bauchhöhle nicht möglich; wenn man die Anschauung von Wassermann und Bruck teilen würde, so könnte es auch danach nicht zur Komplementbindung kommen, weil ja die cytophile Gruppe des Immunkörpers, die sich, um Komplement zu verankern, mit den „freien Rezeptoren“ des Extraktes verbinden müßte, schon von den Bakterien besetzt ist[1]). Die mit dem Immunkörper beladenen Vibrionen sind aber im stande, die Leukocyten zur intensivsten Wirksamkeit zu entfalten, welche dieselben momentan aufnehmen und zerstören (vgl. Versuch III, Meerschweinchen 9). Wenn man das Bestehen der Granula beim Immun- und Extrakttier durch 2 Stunden hindurch beobachtet, wird man kaum annehmen, daß durch Bakteriolyse im freien Exsudate die dem Leukocytentiere eingeführten Vibrionen verschwunden sind. Aus dem Versuche geht auch hervor, daß die Vibrionen

1) Es wäre jedoch möglich, daß größere Mengen von Choleraextrakt allein ebenfalls Komplement aus der Bauchhöhle wegschaffen, wie dies Axamit im Reagenzglase für die verschiedenen Bakterienextrakte ausführlich beschrieben hat (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLII. 1906. Heft 4 u. 5.)

aus dem Immunserum etwas aufnehmen, welche sie für die Phagocytose so geeignet macht (Opsonin, bakteriotrope Substanz).

Unsere Versuche haben also ergeben, daß ein Choleraimmunserum, welches Vibrionen infolge Komplementmangels nicht auflösen kann, nur dann wirkungslos ist, wenn Leukocyten fehlen. Sind jedoch letztere vorhanden, so will der Mangel an Komplement wenig oder gar nichts besagen. Unter dem Einfluß des Immunserums werden die Vibrionen rapide von den Leukocyten aufgenommen und in ihrem Innern zerstört. Die mit dem Immunkörper beladenen Vibrionen erlangen eine starke Avidität zu den Leukocyten, ein Umstand, den schon viele Autoren (Wright, Neufeld und Rimpau, Gruber und Futaki) auch für andere Bakterien festgestellt haben. Diese Ergebnisse stehen jedoch im Gegensatz zu den Anschauungen, die Pfeiffer vertritt. Dieser Autor nimmt, wie bereits erwähnt, an, daß die Phagocytose an sich völlig belanglos ist; wenn die Bakterien nicht mit Immunkörper + Komplement besetzt sind, so können sie in den Leukocyten nicht aufgelöst werden. Besonders Pettersson vertritt in jüngster Zeit ganz streng diese Ansicht. Pettersson hat die summierte Einwirkung von Immunserum und Leukocyten bei intraperitonealer Infektion mit Typhusbacillen und Vibrio Metschnikoff untersucht und fand, daß beides zusammen einen gewaltigen Schutz für den Organismus bedeutet, während weder Immunserum noch Leukocyten allein diesen Schutz entfalten. Den Leukocyten mißt Pettersson eine Bedeutung für die Wegschaffung der Giftstoffe bei. Für Cholera hat früher schon Bail die große Bedeutung der Leukocyten als Gift resorbierende Zellen erkannt, indem er zeigen konnte, daß Meerschweinchen, welche Vibrionen aufgelöst hatten, regelmäßig an Vergiftung zu Grunde gingen, wenn die Leukocyten durch Aggressin ferngehalten wurden. Für das Staphylokokkengift haben Bail und Weil nachgewiesen, daß der Kontakt des Giftes mit den Leukocyten entgiftend wirke, und daß die Injektion von Gift in die leukocytenhaltige Pleura die Vergiftung zu verhindern im stande ist.

Ganz abweichend also von der Anschauung von Metschnikoff, welcher in der Phagocytose und den von den Leukocyten gelieferten Bakterien verdauenden Fermenten die Hauptbedeutung derselben sieht, nehmen Pfeiffer und insbesondere Pettersson an, daß nur die Serumbakteriolysine Bakterien auflösen können, sei es außerhalb oder innerhalb der Phagocyten. Pettersson kommt hauptsächlich zu dem Schlusse, weil es ihm nicht gelungen ist, aus den Meerschweinchenleukocyten bakterizide Substanzen zu gewinnen.

Wir können jedoch diese letzteren Anschauungen, wenigstens soweit sie Cholera betreffen, absolut nicht teilen. Wir sehen nach unseren Versuchen, daß trotz Fehlens von Komplement die Leukocyten selbsttätig sehr rasch und vollkommen die Vibrionen auflösen. Nur die mit dem Immunkörper beladenen Vibrionen gelangen in die Leukocyten, die verdauenden Fermente müssen die Leukocyten selbst geliefert haben; welcher Art dieselben sind, können wir nicht entscheiden, wir sind auch nicht zu der Annahme berechtigt, daß die Leukocyten Komplement enthalten, d. h. jene thermolabile aktive Blutserumsubstanz. Wenn es auch nicht gelingt, aus Leukocyten thermolabiles Komplement zu erlangen, so beweist das noch nicht, daß die Leukocyten Keime nicht auflösen können. Dieses ist eben die Lebenstätigkeit der Leukocyten.

Wir können uns auch im Glase davon überzeugen, daß die Leukocyten selbsttätig Vibrionen in ihrem Innern auflösen, welche nur mit

dem Immunkörper ohne Komplement besetzt sind. Die Leukocyten wurden von einem Meerschweinchen, welches mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt wurde, gewonnen. Da in der Bauchhöhle freies Exsudat nicht vorhanden ist, wird dieselbe mit Kochsalzlösung ausgespült. Die Gerinnung wird durch gelindes Schütteln hintangehalten. Leukocyten werden, um die Spuren anhaftenden Serums zu entfernen, 2mal sorgfältig gewaschen und dann eine sehr dichte Emulsion hergestellt. In 2 ccm Kochsalzlösung und 2 ccm Immunserumverdünnung 1 : 100 werden je 2 Oesen Choleravibrionen verrieben. Das Uebrige ergibt das Versuchsprotokoll.

0,5 ccm Leukocytenemulsion + 4 Tropfen sensibilisierter Vibrionen.	0,5 ccm Leukocytenemulsion + 4 Tropfen normaler Vibrionen.
Sofort. Vibrionen in kleinen Häufchen (agglutiniert), schon zahlreich von Leukocyten aufgenommen [1].	Sofort. Keine Phagocytose.
Nach 10 Minuten. Sehr starke Phagocytose von Vibrionen, vereinzelte Granula in Leukocyten.	Nach 10 Minuten. Vereinzelte Phagocytose.
Nach 30 Minuten. Die in den Leukocyten aufgenommenen Vibrionen schon stark in Granula transformiert. Fast alle Leukocyten voll.	Nach 30 Minuten. Schwache Phagocytose.
Nach 1 Stunde. Massenhaft Granula in Leukocyten, daneben massenhaft phagocytierte normale Vibrionen.	Nach 1 Stunde. Stärkere Phagocytose. Die in den Phagocyten aufgenommenen Vibrionen zum Teil in Granula verwandelt.
Nach 2 Stunden. Die Zahl der Granula in den Leukocyten übertrifft die Zahl der normalen Vibrionen. Vom Vibrio bis zum schlecht gefärbten Granulum alle Uebergänge in den Leukocyten.	Nach 2 Stunden. Wie vorher.

Ganz ebenso wie im Tierkörper, werden auch hier die mit dem Immunkörper besetzten Vibrionen sehr rasch und vollständig von den Leukocyten aufgenommen. Worauf es aber hier hauptsächlich ankommt, ist die Zerstörung der Vibrionen in den Leukocyten; man kann im gefärbten Präparate [2]) alle Uebergänge der Zerstörungsaktion der Leukocyten sehen, normale Vibrionen, schlecht gefärbte Vibrionen, intensiv und schwach gefärbte Granula. Die Mitwirkung von freiem Komplement behufs Auflösung der Vibrionen in den Leukocyten ist aber hier vollkommen sicher ausgeschlossen.

Nach diesen Versuchen läßt sich nicht schließen, ob die zur Phagocytose reizende Substanz identisch ist mit dem Immunkörper. Nachdem man früher durch die Hitzeunbeständigkeit des Opsonins (bakteriotrope Substanz) beide differenzieren zu können glaubte, hat aber Pettersson gezeigt, daß auch dieses hitzebeständig ist. Da das rasche Verschwinden der Vibrionen durch die Leukocyten jedoch nur dann zu stande kommt, wenn eine starke Serumkonzentration auf die Bakterien eingewirkt hat, während die Auflösung derselben noch in den stärksten Verdünnungen eintritt, so scheinen zwischen beiden Substanzen doch Verschiedenheiten zu bestehen. Das werden jedoch erst weitere

---

1) Die Aufstriche wurden auf dem Objektträger gemacht und als Farbe Karbolmethylenblau, welches für Phagocytosepräparate sehr geeignet ist, benützt.

2) In den ungefärbten Präparaten findet man in der freien Flüssigkeit nirgends Granula.

Untersuchungen ergeben. Diese Versuche aber haben gezeigt, daß selbst bei jenen Bakterien, welche der auflösenden Wirkung eines Immunserums sehr leicht zugänglich sind, die Leukocyten von ausschlaggebender Bedeutung sein können, indem das Immunserum nicht mit denselben Komponenten wirkt, welche zur Auflösung von Bakterien notwendig sind. Ein Bestandteil des Immunserums — es muß noch unentschieden bleiben, ob es der bakteriolytische Ambozeptor ist — verbindet sich mit den Bakterien und macht dann den Leukocyten leichte Arbeit. Diese zerstören selbständig ohne das Komplement, welches für die extracelluläre Auflösung Bedingung ist, die Bakterien. Es bleibt unserer Anschauung nach, in voller Uebereinstimmung mit Metschnikoff, die Hauptsache die Aktion der Phagocytose. Je schneller dieselbe erfolgt, desto günstiger für das Tier. Die Leukocyten werden mit den aufgenommenen Keimen leicht fertig. Dies trifft sicher für Cholera zu, und es ist wahrscheinlich, daß es für alle jene Bakterien Geltung hat, welche die Leukocyten aufnehmen und zerstören können, wie ja schon bei den verschiedensten Mikroorganismen beschrieben wurde. Besonders bei den Streptokokken kann man sehr schön beobachten, daß nur im immunisierten Tiere die Leukocyten, welche auch beim normalen Tiere in großer Menge vorhanden sind, intensiv phagocytieren. In neuester Zeit haben besonders Gruber und Neufeld auf die große Bedeutung der Phagocytose aufmerksam gemacht. Aber nicht allen Bakterien gegenüber können sich die Bakterien aktiv verhalten. So wissen wir vom Tuberkelbacillus, daß derselbe sehr leicht von den Leukocyten aufgenommen wird. Die Leukocyten sind jedoch außer stande, ihn zu zerstören. Wir haben bei unseren Untersuchungen über Hühnercholera selbst im immunen Tiere nie eine nennenswerte Phagocytose gesehen. Gruber und Futaki haben festgestellt, daß auch im Glase bei Hühnercholera nie Phagocytose auftritt. Nicht nur Hühnercholera, welche in vielen Punkten einen extremen Stand einnimmt, sondern die echten Parasiten überhaupt verhalten sich den Leukocyten gegenüber sehr resistent. So wird der tierische Milzbrandbacillus nach im Gange befindlichen Versuchen von Bail niemals durch Meerschweinchenleukocyten aufgenommen, was beim Kulturmilzbrand innerhalb wie außerhalb des Körpers leicht erfolgt. Von morphologischen Veränderungen bemerkt man die Ausbildung von Kapseln[1]) und es ließ sich sehr wahrscheinlich machen, daß die Aggressivität von Bakterien in allen ihren Eigenschaften mit morphologischen Veränderungen (Größerwerden der Bakterien im Tier bei Typhus, Cholera und Hühnercholera) zusammenhängt.

Es soll nun weiter untersucht werden, welche Rolle das Komplement und die Leukocyten gegenüber echten Parasiten spielen. Entsprechende Untersuchungen bei Hühnercholera sind bereits in Angriff genommen, welche aus dem Grunde am geeignetsten erscheint, weil das Hühnercholeraserum im Tierkörper nicht bakterizid wirkt und weil die Leukocyten auch im immunen Tiere keine auffallende Wirkung entfalten.

Prag, 3. Oktober 1906.

---

1) Vergl. auch Löhlein, Gruber, Ref. a. d. Vereinigung f. Mikrobiologie.

Literatur.

Bail, Arch. f. Hyg. Bd. LII.
Bail u. Kikuchi, Arch. f. Hyg. Bd. LIII.
Bail u. Weil, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. Heft 3.
— —, Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 27.
Gruber u. Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1906.
Kikuchi, Arch. f. Hyg. Bd. LII.
Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 4.
Neufeld u. Rimpau, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 40.
Pettersson, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. Heft 4.
— —, ibid. Bd. XLII. Heft 1.
Pfeiffer u. Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 3.
Salus, Arch. f. Hyg. Bd. LV.
Wassermann u. Bruck, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 4.
Weil, Arch. f. Hyg. Bd. LII.
— —, ibid. Bd. LIV.

Beitrag zum Studium der Serodiagnose bei den infektiösen, durch Nahrungsmittel verursachten Gastroenteritiden.

[Analytisches Laboratorium des Ospedale Maggiore zu Bologna. (Direktor: Prof. G. Vannini)].

Von Dr. **G. Rocchi**, ehemaligem Assistenten der 1. Abteilung.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Berlin.

In Bologna erkrankten im letzten Januar nach dem Genusse von Wurst aus Schweinefleisch viele Personen an akuter Gastroenteritis, und zwar zeigte die Mehrzahl der Fälle die gewöhnlichen Symptome der „Cholera nostras“.

Einige Fälle begannen mit akuten Magen- und Darmstörungen, und nahmen dann einen infektiös-fieberhaften Charakter mit typhösem Typus an, unter diesen Symptomen dauerte die Krankheit ungefähr einen Monat. Nur ein einziger Fall, der mit dem Tode endete, verlief sehr rasch, und zwar unter Erscheinungen, wie bei einer Arsenvergiftung.

Alle Patienten sind einstimmig der Ansicht, daß die betreffenden Würste frisch hergestellt waren und bezüglich ihres Aussehens, Geruches und Geschmackes einen normalen Eindruck machten.

Die krankhaften Störungen waren ungefähr 2—12 Stunden nach dem Genusse der Speise aufgetreten, die man sowohl gekocht als auch roh verzehrt hatte. Der Verstorbene hatte ungefähr 60 g der rohen Wurst gegessen. Bei den Patienten fand man von der schädlichen Speise keine Reste mehr. Die gerichtliche Nachforschung ergab, daß die Würste von dem Schlächter C. . . fabriziert worden waren, bei dem daraufhin das ganze in seinem Geschäfte befindliche eingepökelte Fleisch mit Beschlag belegt wurde. — Daß das Fleisch von kranken Tieren herrührte, konnte nicht nachgewiesen werden; wohl aber konnte man mit Sicherheit feststellen, daß am Ende des vergangenen Jahres und auch am Anfange dieses Januars in der Umgebung von Bologna eine starke und verbreitete Pneumoenteritisepidemie unter den Schweinen geherrscht hatte.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, über einige serodiagnostische Untersuchungen zu berichten, die ich am Blute des Ver-

storbenen und von 5 Kranken während der Rekonvaleszenz angestellt habe[1]).

Die bakteriologischen Untersuchungen, denen das Blut zweier dieser Patienten unterzogen wurde, lieferten ein negatives Resultat. Eine Untersuchung der Faeces wurde nicht vorgenommen.

In einer früheren Arbeit[2]) habe ich über die Aetiologie der durch Nahrungsmittel verursachten Gastroenteritiden und über die Pneumoenteritis der Schweine gesprochen und habe auch gleichzeitig die Mikroorganismen angegeben, für welche man in ähnlichen Fällen die Agglutinationskraft des Serums der Patienten untersucht. Hier will ich nur in einer Tabelle (p. 204) die Resultate der Serodiagnose, die ich erhalten habe, kurz zusammenfassen.

Die Resultate der obigen serodiagnostischen Untersuchungen sind derartig, daß man ohne Zweifel als Ursache der Gastroenteritis bei den von mir beobachteten Patienten einen Mikroorganismus vom Typus „Gärtner-Schottmüller“ annehmen kann. Die negativen Ergebnisse mit dem Blute Z. J., der nach zweitägigem Krankenlager starb, und von B. E., die ungefähr 4 Tage krank und ungefähr einen Monat nach dem Ablauf ihrer Krankheit untersucht worden war, haben keinen Wert.

Erinnert man sich jetzt, daß der von Salmon und Smith als Erreger der Pneumoenteritis der Schweine beschriebene Mikroorganismus gleichfalls vom Typus Gärtner-Schottmüller ist, so kommt man sogleich auf den Gedanken, daß das von dem Schlächter C. zur Anfertigung der schädlichen Würste verwandte Fleisch[3]) von an Pneumoenteritis leidenden Schweinen herrühren könnte.

Das schnelle Verschwinden des Agglutinationsvermögens bei den beiden Patienten, die ich noch 5 Monate nach der Infektion untersuchen konnte, stimmt mit den Befunden De Nobeles[4]) bei der Nahrungsmittelgastroenteritis von Aertryck überein.

Die Resultate meiner Agglutinationsuntersuchungen bestätigen die Behauptung derjenigen Autoren, welche die beiden Typen des Gärtnerschen Bacillus aufgestellt haben, nämlich den Enteritis-Typus und den Typus Aertryck, und ferner bestätigen sie die Identität dieses letzten Typus mit dem Bac. paratyphi B.

---

1) Die Sektion des Verstorbenen wurde von mir und Dr. Tabboni gemacht. Die dabei gefundenen Resultate und das Ergebnis der pathologisch-anatomischen Untersuchung der Organe werden Gegenstand einer nächsten Arbeit sein. — Die bakteriologische und chemische Untersuchung der Organe des Verstorbenen und ebenso des bei dem Schlächter C. beschlagnahmten eingepökelten Fleisches ist von den Proff. Venturoli und Tiberti und von Dr. Tabboni ausgeführt worden. Proben desselben Fleisches sind von Prof. Brazzola untersucht worden, der dann zusammen mit Dr. Rubinato die im Ospedale Maggiore und im Ospedale di S. Orsola befindlichen Kranken beobachtete. Die ebenerwähnten Untersuchungen sind noch nicht veröffentlicht worden.

2) Rocchi, G., Beziehungen zwischen den durch Nahrungsmittel verursachten Gastroenteritiden, dem Paratyphus und einigen Krankheiten der Schlachttiere. (Bull. Scienze mediche. Bologna. Juli 1906.)

3) Ich habe mit dem Bac. Aertryck, B. paratyphi B, B. Moorseele und typhi an allen Proben der bei dem Schlächter C. beschlagnahmten Würste serodiagnostische Untersuchungen angestellt und negative Resultate erhalten. Ich habe hierbei die Methode von De Nobele[4]) angewandt, d. h. ich habe Muskelgewebestückchen isoliert und das durch Auspressen gewonnene Muskelserum verwandt. — De Nobele hat positive Resultate auch dadurch erzielt, daß er mit Muskelimmunseris von Meerschweinchen arbeitete, die mit dem Salmon-Smithschen Bacillus behandelt worden waren. — In der Praxis sind ähnliche Untersuchungen noch nicht gemacht worden.

4) De Nobele, Ann. Soc. med. Gand. 1898. p. 281 u. 1901, p. 74.

			Patientensera											Kaninchen-Immunsera	
			Z. J. †	T. G.				B. E.	B. M.	A. M.			T. E.	B. „Paratyphus B“	B. „Gand“
		Dauer der Krankheit	13. I. 15. I.	12. I. 10. II.				13. I. 18. I.	13. I. 4. II.	13. I. 25. I.			13. I. 8. II.		
		Daten der Blutentnahme	17. I.	14. II.	15. III.	15. IV.	20. V.	20. II.	26. II.	20. II.	26. II.	1. VI.	20. II.	25. V.	18. V
Bakterien: Art	Stamm	Uebersandt von													
Escherich	B. coli	Labor.-Kult.	0	0	0	0	0	5	0	5	0	0	10	0	0
Eberth-Gaffky	B. typhus	do.	5	40	20	10	5	10	10	5	5	5	30	200	280
Gärtner	B. Moorseele	Prof. Van Ermengem	5	20	20	10	0	5	10	0	0	0	20	200	2000
Gärtner	B. Gand	do.	0	20	20	10	5	5	10	5	10	0	40	100	1900
Gärtner-Schottmüller	B. Aertryck	do.	5	220	100	40	10	10	100	200	180	10	200	3000	200
Gärtner-Schottmüller	B. Paratyphus B	Labor.-Kult.	10	230	100	20	5	10	80	240	220	5	180	4000	180
Brion-Kayser	B. Paratyphus A	do.	0	20	10	10	0	10	5	20	20	10	25	100	90

NB. Die Serodiagnosen sind mittels des Mikroskopes gestellt worden. Die Resultate sind der Durchschnitt von zahlreichen Kontrollversuchen. — Die Bacillen „Paratyphus A und B“ stammen aus dem Hygienischen Institut der Universität München; ich besitze sie schon seit 2 Jahren. — Wie ich schon in meiner oben zitierten Arbeit gesagt habe, bezeichne ich als Typus Gärtner den Enteritistypus anderer Autoren und als Typus Gärtner-Schottmüller die Vereinigung des Typus „Aertryck“ mit dem Typus „Bacillus paratyphi B“.

Vergleichende serodiagnostische Untersuchungen mit den verschiedenen Typen des Gärtnerschen Bacillus und mit den Paratyphusbacillen sind bis jetzt immer mit Immunseris von Tieren und mit Seris von Typhus-, Paratyphus- und Cholera nostras-Kranken angestellt worden. Beobachtungen mit Seris von Kranken, die an Gastroenteritis infolge von verdorbenen Nahrungsmitteln litten, sind selten; es sind nur solche von Durham[1]) und De Nobele (l. c.) bekannt. Diese beiden Autoren haben indessen mit den Paratyphusbacillen keine serodiagnostischen Untersuchungen vorgenommen; denn Schottmüller, Brion und Kayser hatten ihre Mitteilungen über diese Mikroorganismen noch nicht veröffentlicht.

Herrn Prof. Vannini danke ich für die Gastfreundschaft, die er mir in seinem Institute freundlichst gewährt hat, und Herrn Prof. Van Ermengem für die gütige Uebersendung der Kulturen.

Bologna, 8. Juli 1906.

Eine sichere und einfache Methode für Nervensystemstudien, hauptsächlich ihre Anwendung in der Diagnose und Untersuchung der Negrischen Körperchen.

[Research Laboratory, New York, City Health Department.]

Von Dr. **Ira Van Gieson.**

Die Methode, die Verf. ausgearbeitet hat, besteht aus 1) der Herstellung eines eigenartigen Ausstrichpräparates, 2) der Anwendung einer neuen Farblösung.

Ersterer Punkt ist besonders wichtig, nicht nur für die Identifizierung der Negrischen Körper, sondern für die normale und pathologische Histologie des Nervensystems überhaupt. Verf. hat diese Ausstrichmethode schon seit mehreren Jahren gebraucht, hauptsächlich bei Untersuchungen über die normale Struktur der Neuronkörper und über deren degenerative Veränderungen in verschiedenen Krankheiten. Zur Zeit versucht er diese Technik in seinen Studien über Neurofibrillen anzuwenden. Wie die Ausstrichpräparate gewöhnlich gemacht werden, d. h. in derselben Weise wie Blutpräparate, sind dieselben ohne Wert. Nach der hier geschilderten Methode erhält man wunderschöne Präparate der Neuronkörper mit ihren dendritischen und axonalen Fortsätzen.

Ein kleines Stückchen der grauen Nervensubstanz, ungefähr halb so groß wie eine Erbse, wird auf den Objektträger gebracht, mit einem Deckgläschen bedeckt und dann mit sanftem Drucke zerquetscht. Darauf wird das Deckgläschen langsam längs über den Objektträger gestrichen, wodurch dann ein schönes Präparat erzielt wird, in welchem viele Nervenzellen ihre Integrität bewahren.

Für das sympathische Nervensystem, sowie für die Spinalganglien ist die Methode nicht so geeignet, da diese Anteile des Nervensystems zu viel Bindegewebe enthalten. Aber selbst hier kann man ein Stück-

1) Durham, Brit. med. Journ. 1898. p. 600 u. 1797; The Lancet. Vol. I. 1898. p. 154.

chen der zu studierenden Nervensubstanz auf dem Objektträger mit einer Pinzette herumreiben, wodurch dann gewöhnlich mehrere Neuronkörper an demselben haften.

Die Methode besitzt besonderen Wert, wenn man sich über pathologische Veränderungen des Nervensystems orientieren will, so daß man die weiteren Arbeiten aufs beste anpassen kann.

Was die Anwendung in der Wutdiagnose betrifft, so kann man die langweilige Sektionsmethode fallen lassen und sich die eben beschriebenen Ausstrichpräparate herstellen. Diese werden dann entweder in der Luft getrocknet oder, besser, für einige Sekunden in Methylalkohol fixiert. Hierauf werden die Präparate mit der neuen Farblösung bedeckt und über der Flamme leicht bis zur Dampfentwickelung erhitzt. Nach 1 oder 2 Minuten wird in Wasser abgespült, getrocknet und mikroskopisch untersucht.

Die Farblösung wird nach folgender Formel zusammengestellt:

Gesättigte alkoholische Lösung von Rosanilinviolett	2 Tropfen
„ wässerige „ „ Methylenblau	1 „
Destilliertes Wasser	10 ccm

Immer frisch zu bereiten! Für manche Zwecke doppelt so stark zu gebrauchen.

Die Negrischen Körper färben sich charakteristisch intensiv rot, deren Chromatinkörnchen blau.

Nachdruck verboten.

Organabdrücke.

Ein Ersatz für Organschnitte.

Von G. Sticker.

Präparate für die Untersuchung bakterienhaltiger Organe gewann man bisher durch Ausstrich oder durch Schnitt.

Die Ausstriche, durch Ueberfahren mit einem Organstückchen über den Objektträger oder durch Verstreichen von Organsaft oder Organbrei auf dem Objektträger hergestellt, dienen zur einfachen Probe darauf, ob Bakterien überhaupt und welche Bakterien insbesondere vorhanden sind. Ueber ihre Beziehungen zu den Geweben sagt das Ausstrichpräparat für gewöhnlich nichts aus. Handelt es sich um die Feststellung der Lagerung der Bakterien in den Geweben, so waren bisher Organschnitte unumgänglich notwendig.

Das Herstellen von Organschnitten ist so umständlich und zeitraubend, wie das Ausstrichverfahren einfach und mühelos ist. Aus Mangel an Zeit und ausreichender Hilfe muß sich der Diagnostiker oft mit diesem begnügen, wo er das erstere nicht entbehren möchte. Besonders bei den Obduktionen menschlicher Leichen bleibt die ätiologische Diagnose vielfach lückenhaft und unbefriedigend, weil die Herstellung verschoben werden und schließlich unterbleiben muß.

Gäbe es ein Verfahren, das die Einfachheit der Ausstrichmethode mit den Vorzügen der Schnittpräparate einigermaßen verbände, so wäre für die Histoskopie und Bakterioskopie viel gewonnen.

Mir kam der Gedanke, die Schnitte durch Abdrücke zu ersetzen. Der Gedanke erwies sich beim ersten Versuch als ausführbar, über Er-

warten leicht und gut ausführbar. Eine Reihe von Abdrücken, die ich durch leichtes Aufdrücken des Objektträgers auf die Schnittflächen von Organen oder durch flüchtiges Aufsetzen von Organstückchen auf den Objektträger gewann, gaben ganz scharfe und histologisch wohlgeordnete Bilder, die, mit gebräuchlichen Färbeweisen behandelt, die meisten Vorzüge des Schnittes mit der Möglichkeit, sie ohne Zeitaufwand in jeder Anzahl herzustellen, verbanden.

Es hat sich bei zahlreichen Versuchen das folgende Verfahren bewährt: An den Organen oder Organstellen, die der histologischen oder histobakteriologischen Untersuchung unterzogen werden sollen, wird durch ein scharfes Messer eine glatte Schnittfläche hergestellt, von dieser mit leichter Hand durch Andrücken des Objektträgers ohne jede Verschiebung ein Abdruck oder hintereinander eine größere Reihe von Abdrücken gewonnen. Von kleinen Objekten, wie Lymphdrüsen, Rückenmark, oder von Organstückchen kann eine ganze Folge von Abdrücken von derselben Schnittfläche am gleichen Objektträger aufgenommen werden. Die einzelnen Abdrücke einer solchen Reihe müssen bei richtiger Ausführung in der Form kongruent erscheinen wie die Glieder einer Schnittserie. Es stimmt dann auch die Anordnung der Gewebselemente und der Mikroben so überein, daß an dem Wert der Methode kein Zweifel bleibt. Natürlich ist es in vielen Fällen ratsam, die Abdrücke von verschiedenen Schnittflächen zu gewinnen.

Die Herstellung der Abdrücke gelingt am schönsten und sichersten an parenchymatösen Organen und Zellgeschwülsten. Sie mißlingt da, wo überreiche Feuchtigkeit (Blut, Serum) die Schnittfläche überschwemmt oder wo der zu untersuchende Teil, ausschließlich aus festen Bindegewebssubstanzen bestehend, beim Abdrücken keine histologischen Elemente abgeben kann. Ueberfeuchte Organe können vor dem Anlegen der Schnittfläche durch Liegenlassen an der Luft, durch kurzes (stundenlanges) Einlegen in Alkohol, Formollösung oder dergleichen, weniger gut durch Abtupfen mit Leinewand, zweckmäßig vorbereitet werden.

Zur Uebung empfehle ich in erster Linie die Lymphdrüsen und die Milz. An den Abdrücken dieser Organe unterscheidet man mit voller Deutlichkeit die Lymphknötchen, die Pulpa, die Durchschnitte der Blutgefäße, der Lymphgefäße, während an Stelle der Trabekel scharfe Lücken bestehen bleiben. Ein derartiges Präparat läßt schon ungefärbt, besser aber gefärbt, die Anordnung der einzelnen Teile hervortreten.

Im allgemeinen wende ich zur Färbung der Abdrücke das von May und Grünwald zur Blutfärbung empfohlene Verfahren an (Centralbl. für innere Medizin, 1902). Ich habe es für klinisch bakterioskopische Zwecke so brauchbar und so wertvoll erprobt wie Dieudonné (dieses Centralbl. 1906). Es hat den großen Vorzug, daß die Präparate ohne weiteres, unfixiert, in die Färbeflüssigkeit kommen und in derselben eine sehr scharfe Trennung aller Elemente, einschließlich der meisten Mikroben, erhalten. Die Organabdrücke werden wie Blutausstriche schon binnen 2 oder 3 Minuten gut gefärbt. Eine Ueberfärbung tritt aber auch innerhalb einer Stunde nicht ein. Die Differenzierung in destilliertem Wasser dagegen muß vorsichtig geschehen.

Will man mit alkalischem Methylenblau oder mit Karbolfuchsin u. s. w. färben, so ist natürlich wie bei Ausstrichen die vorhergehende Fixierung des Abdruckes über der Flamme, über Formalindampf oder in absolutem Alkohol nötig.

Wer etwa von einem Milzbrandkarbunkel, von einer Streptokokken-

pneumonie, von einer Typhusmesenterialdrüse, von einem tuberkulösen Lungen- oder Darmherd mit dem Gefriermikrotom Schnitte hergestellt und von der letzten Schnittfläche (nach dem Auftauen) Abdrücke gewonnen hat, der überzeugt sich am ehesten, wie genau die Anordnung der Bakterien in Ketten, in Zügen, in Nestern in beiderlei Präparaten übereinstimmt, wie gut ihr Verhältnis zu den Gewebselementen in den Abdrücken gewahrt bleibt, wie klar in diesen die extracelluläre oder intracelluläre Lagerung der Bakterien hervortritt, wie leicht ganz vereinzelte Bakterien aufgefunden werden, die der Schnitt verhehlt. Von Geweben, worin die Bakterien fest eingewurzelt sind, wie in manchen tuberkulösen Herden, erscheint im Abdruck die Zahl der Bakterien mitunter etwas geringer als im Schnitt, der ja schon in dem Verhältnis mehr Bakterien zu Gesicht bringen muß, als er an Dicke den einfachen Abdruck übertrifft.

Ich bin selbstverständlich weit entfernt davon, die Anwendung der Schnittmethode durch meine Abdrücke einschränken zu wollen. Den Vorteil der Abdrücke sehe ich vornehmlich darin, daß sie wie Ausstriche ohne besonderen Zeitaufwand von allen untersuchungsbedürftigen Organen in beliebiger Anzahl gewonnen, alsbald gefärbt und untersucht werden können und wenigstens die sofortige Entscheidung darüber gestatten, ob man Organstückchen zu Schnitten aufbewahren und vorbereiten soll oder nicht; daß sie also die Arbeit zu zahllosen überflüssigen Schnitten ersparen und Zeit schaffen für die mühsamen Schnittuntersuchungen in den Fällen, wo diese nötig oder wünschenswert sind.

Bei epidemiologischen Exkursionen wird die Methode unentbehrlich sein.

Münster i. W., 18. September 1906.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Ueber kreatininbildende Bakterien.

[Aus der mediz. Klinik des Institutes für Aerztinnen in St. Petersburg (Dir. Prof. Alexander v. Lewin).]

Von **Nina Antonoff.**

Es ist gegenwärtig als festgestellt zu betrachten, daß die pathogenen Bakterien natürliche Gruppen bilden, deren einzelne Glieder einander sehr ähnlich und durch zahlreiche Uebergangsstufen miteinander verbunden sind. Durch diesen Umstand wird die differentielle Diagnostik der zu einer Gruppe gehörenden Arten sehr erschwert und kompliziert. Leicht konstatierbare Merkmale, welche zur Differenzierung der Mitglieder einer und derselben bakteriellen Gruppe geeignet wären, gewinnen dadurch sehr an Wert.

Von diesem Standpunkte aus bietet die Mitteilung Zinnos[1]) ein gewisses Interesse, daß einander so nahestehende Bakterienarten, wie Bac. typhi und Bac. coli com., sowie manche Vibrionen, sich voneinander durch die Eigenschaft unterscheiden, Kreatinin zu bilden, dessen Anwesenheit bekanntlich durch die Reaktionen von Weyl und von Jaffé leicht festzustellen ist. Man konnte erwarten, daß dieser Unterschied in der Fähigkeit, Kreatinin zu bilden, auch zwischen anderen, einander sonst sehr nahe stehenden Bakterienarten besteht. Ich habe deshalb auf Vorschlag von Prof. Dr. Alexander v. Lewin eine Reihe von pathogenen Bakterien gruppenweise daraufhin untersucht, um die eventuelle diagnostische Brauchbarkeit dieses Merkmales zu bestimmen.

I.

Vor allem untersuchte ich in dieser Beziehung die Coli-Gruppe, von der mir folgende Repräsentanten zur Verfügung standen: Bac. typhi abd., Bac. paratyphi α und β, Bac. coli com., Bac. dysenteriae Shiga-Kruse und Bac. pseudodysenteriae Flexner (Manila).

Da alle bouillonhaltige Nährböden Kreatinin enthalten, so waren sie natürlich zu meinen Zwecken ungeeignet. Ich benutzte deshalb als Nährboden eine sterilisierte, 2-proz. wässerige Lösung von käuflichem Pepton mit Zusatz von $^1/_2$ Proz. Kochsalz. Das von mir benutzte käufliche Pepton (Albumosengemisch) enthielt weder Kreatinin noch Kreatin, da es weder an sich, noch nach vorherigem einviertelstündigen Kochen mit schwacher Schwefelsäure (Neutralisieren mit $BaCo_3$, Filtrieren) eine positive Weylsche Reaktion ergab. Die geimpften Reagenzröhrchen wurden im Thermostaten bei 37 ° C gehalten und in bestimmten Zeitintervallen (anfangs täglich, später seltener) mittelst der Weylschen Reaktion auf die Anwesenheit von Kreatinin geprüft. Da diese Reaktion außer mit Kreatinin, auch mit Aceton positiv ausfällt, so wurden die Reagenzröhrchen zuerst eine Stunde lang im Stromdampfapparat gehalten, wodurch zugleich die Bakterien abgetötet, sowie das etwa vorhandene leichtflüchtige Azeton entfernt wurde.

Die Reaktion wurde immer folgendermaßen angestellt: Zu 5 ccm der abgetöteten Peptonwasserkultur wurden 1—2 ccm einer 15-proz.

1) Zinno, Riforma medica, 1893, p. 218.

Aetznatronlösung und darauf 7 Tropfen einer frisch bereiteten 10-proz. Nitroprussidnatriumlösung hinzugefügt. Diese quantitativen Verhältnisse der Reagentien ergaben bei vielfachen Vorprüfungen an verschiedenen kreatininhaltigen Flüssigkeiten immer die besten Resultate.

Bei Anwesenheit von Kreatinin nahm die Flüssigkeit eine rubinrote, bei manchen Bakterien eine kirschrote Farbe an. Nach 1—5 Minuten geht die rote Farbe in eine strohgelbe über. Nach Ansäuern mit Essigsäure wird die Flüssigkeit grünlich und allmählich blau (Salkowskische Reaktion). Die Schnelligkeit des Grünwerdens entspricht im allgemeinen dem Intensitätsgrad der roten Farbe. Wird zur grün gewordenen Flüssigkeit ein Ueberschuß von Aetznatron zugesetzt, so kehrt die rubinrote Farbe wieder zurück. In denjenigen Fällen, wo der Zusatz von Nitroprussidnatrium nur eine schwache Rötung verursachte, mußte man gewöhnlich, um die Salkowskische Reaktion zu erlangen, die Flüssigkeit erhitzen.

Von den Bakterien der Coli-Gruppe gab vor allem der Bac. coli com. eine positive Kreatininreaktion, und zwar schon am Ende der ersten 24 Stunden; nach 3—4 Tage langem Stehen im Thermostaten ergab die Weylsche Reaktion schon eine dunkelkirschrote Farbe. Dieselbe Reaktion ergibt auch der Bac. pseudodysenteriae Flexner (Manila), während dagegen der Bac. dysenteriae Shiga-Kruse, sowie der Bac. typhi abdominalis und die Bac. paratyphi α und β völlig negative Resultate ergaben. Es ist interessant, zu notieren, daß der Bac. typhi abdomin. zwischen dem 20.—25. Tage manchmal eine schwache positive Reaktion geben kann. In dieser Beziehung steht also der Typhusbacillus dem Colibacillus vielleicht näher, als die beiden Varietäten der Paratyphusbacillen.

Eine zweite natürliche Gruppe bildeten der Pneumobacillus Friedländeri und Bac. rhinoscleromatis. Die beiden ergaben völlig negative Resultate, obwohl der Rhinosklerombacillus bei sehr langem Stehen im Thermostaten (1 Monat) machmal eine sehr schwache Andeutung einer positiven Reaktion geben kann.

Eine dritte Gruppe bestand aus pyogenen Kokken: Staphylococcus aureus und albus und Streptococcus pyogenes. Dabei wurde die interessante Tatsache konstatiert, daß von zwei einander so nahestehenden Arten, wie der gelbe und der weiße Staphylococcus, der erste eine negative Reaktion ergab, während der zweite eine positive zeigte. Beim Streptococcus war die Reaktion während der ersten zwei Tage negativ und nur vom 3. Tage an war eine sehr schwache positive Reaktion bemerkbar.

Eine vierte Gruppe bestand aus dem Vibrio cholerae asiat. und den choleraähnlichen V. Metschnikowi, V. Deneke, V. Milleri und V. Finkleri. V. cholerae asiat. und V. Metschnikowi ergaben schon nach 24 Stunden eine sehr ausgesprochene positive Reaktion, nach 2—3 Tagen sogar eine dunkelkirschrote. Die übrigen Vibrionen geben ebenfalls eine positive Reaktion, aber merklich später. Bemerkenswerterweise ergab der V. Deneke, bei der für diesen Saprophyten weniger geeigneten Temperatur von 37—38° gezüchtet, eine negative Reaktion, während derselbe Vibrio, bei ca. 7° bis nicht über 22° gezüchtet, eine deutlich positive Reaktion zeigte.

Eine fünfte Gruppe bildeten einige Repräsentanten der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie, nämlich Bac. cholerae gallin., Bac. pseudotuberculosis rodentium, Bac. suis pesticus. Davon

gab nur der Hühnercholerabacillus vom 7.—9. Tage an eine positive Reaktion, die beiden anderen eine negative. Eine 2-tägige Kultur des Pestbacillus, welcher bekanntlich ebenfalls zur Gruppe der hämorrhagischen Septikämie gehört, ergab eine schwache positive Reaktion. Zu weiteren systematischen Beobachtungen über den Pestbacillus hatte ich keine Gelegenheit.

Die sechste Gruppe bildeten zwei naheverwandte Species, der Bac. diphtheriae und der Hoffmannsche Pseudodiphtheriebacillus. Der Diphtheriebacillus zeigte eine schwache positive Reaktion, aber erst nach 2 Wochen, der Pseudodiphtheriebacillus dagegen schon nach 3 Tagen. Doch war auch hier die Reaktion ziemlich schwach.

Eine gelegentliche Beobachtung über den Micrococcus roseus zeigte, daß dieser Mikroorganismus ebenfalls zu den Kreatininbildnern gehört.

II.

Uebersieht man die Resultate der obigen Beobachtungen, so fällt der Umstand auf, daß die Fähigkeit, Kreatinin zu bilden, bei manchen Bakterien mit der Eigenschaft, Säure zu bilden, Hand in Hand zu gehen scheint. Manche energische Kreatininbildner (Bac. coli com., Vibr. cholerae) sind zu gleicher Zeit energische Säurebildner. Bekanntlich bildet sich Kreatinin sehr leicht aus Kreatin in Gegenwart von Säuren. Zwar ist außerhalb des Organismus und der Wirkungssphäre lebender Zellen Siedehitze erforderlich. Doch verfügen lebende Zellen über Molekularkräfte, welche die Wirkung der Wärme weit übersteigen. Man konnte annehmen, daß die Fähigkeit, Kreatin zu bilden, möglicherweise vielen Bakterien zukommt, während die Fähigkeit, es in Kreatinin zu verwandeln, hauptsächlich diejenigen Bakterien besitzen, welche gleichzeitig dem Nährboden den nötigen Grad der Säure zu verleihen vermögen.

Um die Richtigkeit dieser Voraussetzung zu prüfen, habe ich auf Vorschlag Prof. A. M. v. Lewins einige starke Säurebildner auf die Fähigkeit, Kreatinin zu bilden, geprüft, nämlich den Bac. acidi lactici und den Proteus vulgaris. Und richtig; beide zeigten sehr starke positive Reaktion. Dann züchtete ich alle oben erwähnten pathogenen Bakterien einerseits auf Peptonwasser mit Zusatz von Traubenzucker und andererseits auf Peptonwasser mit Zusatz von $CaCo_3$. Der Zusatz von Traubenzucker begünstigt bekanntlich die Säurebildung sehr bedeutend, während der unlösliche kohlensaure Kalk, ohne die Alkalescenz des Nährbodens zu verstärken, die von den Bakterien gebildete Säure sofort absättigt und die Entwickelung der sauren Reaktion verhindert.

Von der ersten Gruppe ergab der Typhusbacillus, B. parathyphi α und β und der Bac. dysenteriae Shiga-Kruse auf Zuckerpeptonwasser eine schwach positive Reaktion, und zwar der Typhusbacillus früher, als die beiden Paratyphusbacillen. Auf dem kalkhaltigen Peptonwasser war die Reaktion ebenso negativ wie auf gewöhnlichem Peptonwasser. Was den Bac. coli com. und den Flexnerschen Pseudodysenteriebacillus betrifft, so zeigten dieselben gerade entgegengesetzte Verhältnisse, nämlich eine negative Reaktion auf Zuckerpeptonwasser und eine positive auf dem Calciumnährboden.

Von der zweiten Gruppe gab der Rhinosklerombacillus auf beiden Nährböden eine negative Reaktion, während der Friedländersche Pneumobacillus auf dem kalkhaltigen Nährboden eine schwach positive

Reaktion am 20. Tage zeigte (auf gewöhnlichem Peptonwasser erst am 30.).

Von der Gruppe der pyogenen Kokken zeigte der Staphylococcus albus auf Zuckerpeptonwasser eine stark positive Reaktion, der Streptococcus eine schwach positive, während der Staphylococcus aureus negativ reagierte; auf Calciumpeptonwasser fiel die Reaktion bei allen drei Arten negativ aus.

Aus der Gruppe der Vibrionen zeigten V. Metschnikowi und V. Milleri auf Zuckerpeptonwasser eine schwach positive Reaktion, während bei V. Finkleri, V. Deneke und V. cholerae asiat. die Reaktion negativ war. Dagegen war auf Calciumpeptonwasser die Reaktion bei allen genannten Vibrionen stark positiv. V. Metschnikowi und V. cholerae zeigten schon nach 20 Stunden eine positive Reaktion, die übrigen erst nach 10—15 Tagen.

Von der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie gab der Hühnercholerabacillus auf Zuckerpeptonwasser eine negative Reaktion, auf Calciumnährboden eine schwach positive am 10.—15. Tage, dagegen ergab der Bac. pseudotuberculosis rodentium eine schwache positive Reaktion auf Zucker- und eine negative auf Calciumpeptonwasser.

Der Diphtheriebacillus zeigte eine stärkere positive Reaktion auf Zuckerpeptonwasser, der Pseudodiphtheriebacillus auf gewöhnlichem Peptonwasser.

Bac. acidi lactici und Proteus vulgaris gaben auf Zuckerpeptonwasser eine negative oder sehr schwache positive Reaktion, auf beiden anderen Nährböden zeigten sie eine sehr starke positive Reaktion.

Somit war für einige der untersuchten Bakterien (Typhus, Paratyphus, Dysenterie, Pseudotuberculosis rodentium, Diphtherie, Staphylococcus und Streptococcus) der Zusammenhang der Kreatininbildung mit der Säurebildung wahrscheinlich gemacht. Gleichzeitig wurde aber klar, daß neben dem Säuregehalt des Nährbodens auch noch andere Umstände die Kreatininbildung bedingen, da der Bac. coli com., Bac. pseudodysenteriae Flexner, Pneumobacillus Friedl. alle Vibrionen, Hühnercholera, Pseudodiphtherie, sowie der Bac. acidi lactici und Proteus vulgaris im Gegenteil hauptsächlich auf dem Calciumnährboden eine positive Reaktion zeigten. Diese besondern Umstände erfordern natürlich ein weiteres Studium.

Vom Standpunkte der biochemischen Artdiagnose ist es interessant, zu bemerken, daß einander so nahestehende Arten, wie Bac. Shiga-Kruse und Bac. Flexner in Bezug auf Kreatininbildung sich sehr von einander unterscheiden, daß die beiden Paratyphusbacillen sich in dieser Beziehung an den Typhusbacillus und nicht an den Bac. coli com. anschließen, daß der gelbe und der weiße Staphylococcus in Bezug auf Kreatininbildung einander diametral entgegengesetzt sind, daß alle untersuchten Vibrionen in dieser Beziehung beinahe gleich sind, und endlich, daß man in der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie große Unterschiede in der kreatininbildenden Fähigkeit der verschiedenen Species erwarten kann.

Nachdruck verboten.

Micro-organisme trouvé dans le sang pendant la paralysie générale progressive.

Par le Dr. **N. Sokalsky** (Tschernigow, Russie).

1. S. P., 50 ans, présente un cas-type de paralysie générale progressive, deux années s'étant écoulées depuis les premières manifestations de la maladie. On observe des troubles de la locomotion, la dysarthrie, la démence profonde et de la mégalomanie absurde. Du 18 à 24 octobre 1904 status paralyticus s'est développé, les accès épileptoides devenant de jour en jour plus fréquents. Vers le 23 octobre les accès épileptoides se répètent chaques 3—5—10 minutes.

Le 23 octobre j'ai pris, avec les précautions nécessaires, 5 c. c. de sang de la veine médiane in plica cubiti, l'aiguille de seringue étant introduite dans la veine d'une manière absolument stérile, et j'ai fait des ensemencements sur l'agar-agar, sur la gélatine, sur la pomme de terre et sur le bouillon.

2. V. D., âgé de 28 ans, est malade depuis 6 mois. Syphilis dans l'anamnèse. On observe de la démence, perte complète du sens moral, euphorie, la réaction lente des pupilles et des troubles de l'écriture. Le malade est toujours agité, de temps en temps cette agitation devenant plus forte et reprenant le caractère d'excitation psychomotrice. Le 2 novembre 1904 dans la période d'excitation plus prononcée j'ai pris 1,5 c. c. de sang de la veine médiane in plica cubiti, dont j'ai fais des ensemencements sur les milieux.

Le contenu des éprouvettes avec les milieux restant pendant des semaines dans le thermostate ne change pas de son aspect macroscopique: le bouillon reste transparent et les caillots de sang plongés dans le bouillon et sur l'agar-agar ne changent pas longtemps leur coloration.

Les préparations en frottis faites après que les éprouvettes avec le sang du malade S. P. fussent restées 24 heures dans le thermostate, et colorées au Bocardi et avec 1 % de solution alcoolique d'éosin, présentent beaucoup de corpuscules ronds, d'une réfraction très prononcée, inclus dans les érythrocytes. Quelques-uns des érythrocytes contiennent 1—2 de ces corpuscules, les autres en contiennent 15—20.

Deux jours plus tard quelques éléments figurés sont entièrement remplis de ces corpuscules. Le 2 novembre on observe les mêmes corpuscules libres fort réfractant la lumière qui se ramassent en tas. Dans les érythrocytes on observe encore des vacuoles.

Ces corpuscules sont de plus grande dimension que les micrococcus de tout autre genre, ils réfractent fort la lumière, ne se colorant presque pas avec des solutions diluées de la fuchsine, de gentiane-violette, de methyl-bleu; ils se colorent mieux avec la fuchsine concentrée et par 1 %-éosine dans l'alcool. Ils ne se colorent pas du tout au Gram.

Dans le sérum artificiel on observe des mouvements énergiques de ces corpuscules.

Le 26 novembre j'ai ensemencé trois anses de platine sur le bouillon et le 3 décembre j'ai versé cette culture de 7 jours sur l'agar-agar plat dans un matras.

Pendant le mois de décembre 1904 et le mois de janvier 1905 un léger précipité s'était produit dans le bouillon qui resta tout à fait

transparent. Le bouillon ne se trouble pas non plus dans le matras où l'on peut observer le même précipité grisâtre sur le fond plat du matras et sur les pièces brisées de l'agar-agar. Le microscope montre que ce précipité consiste des mêmes corpuscules ronds qui s'accumulent en tas, se disposant en deux, en quatre à l'instar des sarcines; une quantité de corpuscules restent isolés.

Les milieux ensemencés par le sang du malade V. D., après 8 jours de repos dans le thermostate (37,5° C), n'ont presque pas changé de leur aspect macroscopique. Le 13—16 novembre on observe sous le microscope le même tableau que dans le cas précédant: l'agglomération en tas des corpuscules ronds fort réfractant la lumière. Une anse de platine étant cueillie le 13 novembre de l'agar-agar et transportée dans le sérum artificiel, les corpuscules manifestèrent leur propre mouvement très prononcé, ce qui fut observé aussi dans le cas précédant. Une anse de sang étant cueillie le 14 novembre du fond de l'éprouvette avec le bouillon, on n'apercevait aucun mouvement actif des mêmes corpuscules.

Sur les frottis colorés au Bocardi on peut observer ces corpuscules inclus dans quelques érythrocytes. Quelque part on observe de petites agglomérations de ces corpuscules situées isolément comme si ces agglomérations étaient sorties des érythrocytes détruits.

A la fin de novembre j'ai transporté les cultures de ce micro-organisme reçues de V. D. sur le bouillon et sur l'agar-agar plat, comme je l'avais fait dans le cas précédant. Pendant le mois de décembre 1904 et le mois de janvier 1905, les milieux restant dans le thermostate, un précipité grisâtre s'est produit dans les éprouvettes et sur le fond plat de matras. Ce précipité consiste des mêmes corpuscules ronds, des mêmes micro-organismes qu'on avait observés dans le cas précédent. Ces micro-organismes s'accumulent en tas, dont quelques-uns restent isolés, quelques-uns sont répartis par deux, quatre ou six, faisant allusion à des sarcines.

Les cultures de ce micro-organisme reçues de S. P. et V. D. ont une croissance très lente. Le précipité grisâtre ou plutôt gris-blanchâtre sur le fond des éprouvettes s'augmente très lentement, le bouillon restant clair.

Le bouillon dans les matras avec les cultures sur l'agar-agar plat vers le septembre 1905 (au commencement de l'année 1905 j'ai ajouté du bouillon frais) est devenu moins transparent et le précipité grisâtre est mêlé avec des cristaux des sels qu'on peut voir à l'oeil nu. Le tableau sous le microscope reste toujours le même.

Depuis le mois de février 1905 jusqu'à la fin de l'année les cultures restaient au laboratoire hors du thermostate.

Le 24 septembre j'ai ensemencé sur les 30 c. c. de bouillon trois anses de platine de culture de V. D. (agar-agar plat avec bouillon). Le 29 septembre on observe le précipité grisâtre qui consiste des mêmes micro-organismes ronds qui avaient déjà été décrits. On observe aussi quelque bacilles (micro-organismes étrangers ou les formes involutives du micro-organisme observé?). Le bouillon est un peu troublé.

Le 29 septembre j'ai injecté 20 c. c. de cette culture à un cobaye sous la peau au ventre. Pendant le jour suivant le cobaye inoculé était accablé, ses mouvements étaient inaptes, moins prompts, il ne mangeait pas.

Le 20 octobre un autre cobaye reçut sous la peau au ventre aussi

20 c. c. de culture semblable provenant du malade S. P. Cette culture ne contenait que les micro-organismes décrits. Le précipité dans l'éprouvette était moins abondant que dans le cas précédent. Le jour suivant le cobaye était lent, il avait presque perdu la capacité du mouvement de ses extrémités postérieures, il ne mangeait presque rien.

Pendant les derniers mois de l'année 1905 et pendant les mois de janvier, de février et les premièrs jours de mars 1906 tous les deux cobayes ne présentaient rien de ce qui pourrait attirer l'attention. Ils restaient toujours dans le laboratoire, ils mangeaient bien et semblaient être bien portants.

Le 7 mars l'un des cobayes, celui qui a reçu sous la peau la culture provenant du malade V. D., tombe dès le matin d'une manière inattendu en agonie qui dure quelques heures. Quelle qu'eût été l'attitude qu'on donnait à l'animal, il se renversait chaque fois de son coté droit (hemiparesis dextra). L'agonie durant à peu près six heures quand j'ai fait l'obduction du cobaye qui vivait encore. Le sang pris du coeur qui battait encore fut ensemencé sur le bouillon et sur l'agar-agar. De petites pièces de l'écorce cérébrale et de moelle épinière furent placées dans le bouillon.

Le foie est fort augmenté et présente une dégénération graisseuse très prononcée. Les poumons sans altération. Le péritoine est très sec.

Deux jours plus tard dans les cultures de bouillon on observe beaucoup de micro-organismes ronds qui ne sont pas discernables morphologiquement des cultures reçues de nos malades. Le bouillon reste transparent.

Dans le bouillon avec de petites pièces de l'écorce cérébrale ($^1/_2$—1 g au poids) s'est développé un précipité grisâtre abondant ayant naissance de ces pièces et s'accumulant en abondance autour d'elles. Ce précipité présente une pure culture des mêmes micro-organismes avec toutes leurs particularités. Le précipité dans le bouillon contenant des pièces de moelle épinière est tout à fait insignifiant.

Le deuxième cobaye inoculé le 20 octobre 1905 succomba la nuit de 26 à 27 du mois de mai 1906. Cela est arrivé dans les circonstances où je ne pouvais pas à mon regret faire des observations nécessaires et je devais me borner d'une obduction superficielle qui ne m'a rien décelé. Pas d'altérations appréciables dans tous les organes, tractus gastro-intestinalis était tout rempli abondamment d'une masse verte pultucée, provenant de l'herbe fraiche que tous mes cobayes mangeaient dès le printemps.

Ce cobaye qui depuis la fin d'avril et pendant le mois de mai 1906 se trouvait parmi les autres cinq cobayes, se distinguait de ces derniers par quelques particularités: il était flasque, ses mouvements étaient beaucoup plus lents que ceux des autres. Il mangeait toujours beaucoup et en même temps il maigrissait.

Le 29 mars 1906 j'ai pris 5 c. c. de sang de la veine in plica cubiti d'un troisième paralytique A. Ch., agé de 49 ans, en période d'exacerbation de la maladie (excitation psychomotrice) et j'ai fait des ensemencements sur les milieux. Les éprouvettes restaient pendant deux jours hors du thermostate dans le laboratoire et le 2 avril on observe sous le microscope les mêmes phénomènes que dans les deux cas précédents: à l'intérieur de beaucoup d'érythrocytes on observe des corpuscules ronds décrits déjà, occupant leur périphérie et aussi placés dans le centre des éléments figurés; beaucoup de micro-organismes ont des

vacuoles dans leur protoplasma, quelques érythrocytes ne portent que 1—2 corpuscules. On observe beaucoup de micro-organismes libres situés en dehors des érythrocytes. Quelques jours plus tard on observe les mêmes phénomènes, mais le nombre des micro-organismes libres et s'accumulant en petit tas s'est augmenté.

On peut admettre que dans tous les cas observés c'est toujours le même micro-organisme. Il ne se colore presque pas avec les solutions faibles de la fuchsine, de la gentiane-violette, du bleu de methyl; il se colore par la fuchsine et gentiane-violette phéniquée concentrée; par l'éosin 1 % alcoolique il se colore en rose-orange; au Gram il ne se colore pas du tout. Il produit des gaz (vacuoles dans les érythrocytes).

La forme de ce micro-organisme n'est pas absolument sphérique: plutôt ce sont des ellipsoïdes ou plutôt des corps arrondis dont la surface n'est pas tout à fait régulière.

Par ses dimensions ce micro-organisme est plus grand que tous les genres de micrococcus. Ils s'accumulent en tas; on observe beaucoup de micro-organismes isolés aussi distribués par deux, par quatre à l'instar des sarcines, et par six; mais cette distribution n'est pas aussi charactéristique, pas aussi prononcée que chez les sarcines ou micrococcus tetragenes.

Ce micro-organisme ne forme pas de colonies sur l'agar-agar et sur la gélatine. Dans le bouillon il produit un précipité grisâtre ou grisblanchâtre qui se fait très lentement; le bouillon reste transparent.

Ce micro-organisme semble avoir son propre mouvement quoique quelquefois je n'aie pas pu observer ce mouvement.

J'ai exploré ceteris paribus le sang des malades dans la stupeur aiguë sans aucun résultat positif.

Tschernigow, 2 (15) septembre 1906.

Nachdruck verboten.

Ist die Harnblase in normalem Zustande für Bakterien durchgängig?

Von Dr. **Livio Vincenzi,**
o. Professor für allgemeine Pathologie an der Universität in Sassari.

Die Einführung bakterienenthaltender Flüssigkeiten in die Harnblase ist nach Wegner (1) resultatlos. Tricomi (2) konnte nach Einspritzungen von Staphylococcus pyogenes aureus, Bacillus anthracis und anderen Bakterien weder eine Veränderung der Harnblase, noch den Durchgang der Mikroorganismen in die Blutbahn konstatieren.

Aus dem Erfolge zahlreicher, von mir angestellter Tierversuche ergibt sich dagegen die Möglichkeit, durch Einführung pathogener Bakterien in die Harnblase eine allgemeine Infektion hervorzurufen.

Nicht jedes Tier eignet sich zu den Experimenten. Um ganz unstreitbare Resultate zu erreichen, muß man unbedingt jede auch nur minimale Läsion der Harnblase sowie der Urethra vermeiden. Männliche Tiere sind dazu unbrauchbar; von den weiblichen fand ich das Meerschweinchen für das geeignetste, da die Urethra kurz, die Oeffnung

leicht zu finden ist und die Einführung einer feinen, stumpfen Kanüle ohne jede Schwierigkeit gelingt.

Von den pathogenen Bakterien habe ich solche ausgewählt, die eine Infektion per os zu geben im stande sind. Unter diesen gebrauchte ich einen von mir im Jahre 1890 beschriebenen Bacillus (Bacillo opale agliaceo) (3), welcher die Pseudotuberkulose der Meerschweinchen und Kaninchen verursacht. Es ist nicht nötig, hier über die morphologischen und biologischen Eigenschaften desselben zu sprechen; es sei nur erwähnt, daß dieser Bacillus, per os eingeführt, durch die Schleimhaut des Darmes, ohne irgendwelche Veränderung an derselben zu verursachen, durchgeht und die Pseudotuberkulose hervorruft.

Zu meinen Experimenten vermischte ich etwas Agarkultur in 0,5 bis 1 ccm Wasser und führte die Flüssigkeit mit einer, mit stumpfer Kanüle versehenen Pravaz-Spritze in die Harnblase ein.

Die so behandelten Tiere gingen in einem Zeitraume von 15 bis 28 Tagen zu Grunde. Die Ergebnisse der Sektion waren folgende:

Nichts Abnormes in der Harnblase. Zwei Lymphdrüsen hinter derselben sehr geschwollen, mit käsig eingedicktem Eiter. In der Nähe der linken Niere findet sich eine haselnußgroße, verkäste Lymphdrüse. Die Lungen sind von unzähligen Knötchen durchsetzt. Einige hirsekorngroße Knötchen bemerkt man an der Oberfläche der Leber, in der Milz und manchmal in den Nieren. Keine Veränderung im Gehirn, Magen und Darm. Die Leistenlymphdrüsen stark geschwollen und größtenteils vereitert.

Nachdem ich mehrere Tiere mit identischem Sektionsbefund beobachtete, versuchte ich in einer Reihe von Experimenten, den progressiven Lauf der Infektion genau zu verfolgen.

So fand ich nach 24 Stunden der Infektion trotz keiner Veränderung der Harnblasenschleimhaut die retrovesikalen Lymphdrüsen hyperämisch, besonders in den unteren Teilen, und etwas vergrößert. Positiv fielen die mikroskopisch sowie die bakteriologisch angestellten Untersuchungen aus.

Nach 3 Tagen war die Schwellung der genannten Drüsen bemerklich, und es fing eine Lymphdrüse nahe der linken Niere zu schwellen an. Nach 5—7 Tagen zeigten sich die Leistendrüsen vergrößert. Unzählige, ganz kleine Knötchen erschienen in den Lungen gewöhnlich nach 8—9 Tagen. Sehr spät und nur wenn die Tiere in einem elenden Zustande waren, entwickelten sich einige Knötchen in den abdominellen Organen. Die Lymphdrüsen sowie die Lungenknötchen fand ich bei vorgeschrittenem Prozeß immer käsig verändert.

Nach diesen Resultaten unterliegt es keinem Zweifel, daß die Krankheit durch die lymphatischen Apparate stattfindet.

Wie ich oben bemerkte, um die Durchgängigkeit der normalen Schleimhaut zu beweisen, muß man jede mechanische Läsion der Harnblase und der Urethra ausschließen können.

Da der angewandte Bacillus dort, wo die Integrität der Schleimhaut zerstört ist, ohne Ausnahme die Bildung eines Knötchens hervorruft, so konnte ich mich leicht überzeugen, ob in den Versuchen eine auch nur minimale Läsion der Blase und der Urethra stattgefunden hatte. Bildete sich ein Knötchen in der Urethra, so wurde dieselbe rot, geschwollen, schmerzhaft und die Leistenlymphdrüsen erschienen bald an derselben Seite der Läsion vergrößert. Kam es zur Bildung eines Knötchens in der Blase, so konstatierte ich eine Entzündung derselben.

Da in vielen Fällen gar keine makroskopische und mikroskopische Veränderung der Harnblase und Urethraschleimhaut gefunden wurde, so muß man annehmen, daß die Bakterien durch die normale Blase gehen und eine allgemeine Infektion hervorzurufen im stande sind.

Könnte aber die Infektion von der Urethra aus und nicht von der Blase herrühren? Gegen diesen Einwand sprechen die Resultate meiner Versuche. Ich brachte in die Urethra mehrerer Tiere eine ziemlich große Menge Bacillen, aber immer ohne jeden Erfolg.

Nun glaube ich nach dem hier in Kürze Mitgeteilten schließen zu können, daß „die Harnblase in normalem Zustande für manche Bakterien durchgängig ist“.

Literatur.

1) Wegner, Langenbecks Archiv. Bd. XX. 1882. p. 51.
2) Tricomi, Archivio e Atti della Società Italiana di Chirurgia. Anno VI. 1890.
3) Vincenzi, Ricerche sperimentali con un nuovo bacillo patogeno e considerazioni sulla così detta pseudo-tubercolosi zoogleica. (Giornale della R. Accademia di Medicina. Anno 1890. No. 6. Torino.)

Ueber die Verschleppung der Lyssa durch Ratten und Mäuse.

Von **Claudio Fermi.**

Die letzten Arbeiten über die Tollwut bei den Muriden haben Zweifel aufsteigen lassen und zur Annahme geführt, daß diese Tiere furchtbare Verbreiter der Tollwut sein könnten. Ich bin nicht dieser Meinung. Freilich bestehen wohl Tatsachen, die zu Gunsten dieser Annahme sprechen, doch einige dieser Tatsachen sind in sich selbst unhaltbar, die anderen hingegen wurden durch andere Tatsachen und andere Betrachtungen zerstört. Zu Gunsten der in Rede stehenden Meinung sprächen folgende Tatsachen:

1) Daß die Muriden, wie ich bewiesen habe, sich die Tollwut durch Aufnahme von Wutmaterial zuziehen können.

2) Daß, während das Wutvirus durch den Uebergang von Hund zu Hund schwächer wird, es hingegen beim Uebergang von Ratte zu Ratte zunimmt, sogar schneller als bei der Katze und beim Kaninchen.

3) Daß man einige Fälle kennt, in denen Personen von verdächtigen Ratten und Mäusen gebissen wurden, so z. B. die von De Blasi und Russo Travali[1]), Marino Zuco[2]), Zaccaria[3]), Nicolle und Chaltiel[4]) und von Remlinger[5]) angeführten. Ebenso führte Kraïouschkine[6]) einen Fall an, in welchem ein Kaninchen von einer Ratte gebissen wurde.

---

1) De Blasi u. Travali, Russo, Baumgartens Jahresber. 1890. p. 152.
2) Zuco, Marino, Ann. di Igiene sperim. 1903.
3) Zaccaria, Rend. Statist. delle vaccin. (Arch. dell' Istituto di Faenza. 1903.)
4) Nicolle et Chaltiel, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1904.
5) Remlinger, Soc. de Biol. 1904. Jan. u. 1905. 1. Juli.
6) Kraïouschkine, Baumgartens Jahresber. 1893. p. 115.

Außerdem ist der Beweis noch nicht erbracht, daß die beißenden Muriden wirklich wutkrank waren. Auch in Bezug auf den von Remlinger erwähnten Fall ist nicht bewiesen, daß das 6 Monate zuvor von einer Maus gebissene junge Mädchen aus Smyrna sich diese Krankheit nicht auf anderem Wege zugezogen habe. Außerdem ist es ein Arzt aus Smyrna, der diesen Fall mitteilt, und auch er stützt sich nur auf die Angaben des Mädchens. Endlich, und dies ist eine große Seltenheit, soll die Krankheit 9 Tage gedauert haben.

Gegen die Verbreitung der Tollwut durch die Muriden sprechen folgende Tatsachen und Betrachtungen:

1) Ich habe in der Tat nachgewiesen, daß die Muriden sich die Tollwut durch Einführung von Wutmaterial zuziehen können, ich habe aber auch bewiesen, daß die Uebertragung der Lyssa von Ratte auf Ratte, von Maus auf Maus durch Speichel, welcher auf subkutanem Wege inokuliert, und zwar durch Injektion oder durch Biß eingeführt wird, äußerst schwer ist. In der Tat versuchte ich den Speichel und die Speicheldrüsen von 20 an der Tollwut durch Straßenvirus gestorbenen Ratten auf 71 Mäuse, hatte aber immer ein negatives Resultat. Zwei Ratten und eine Maus, die von einer mit experimenteller furioser Wut befallenen Maus gebissen wurden, leben heute noch.

Wenn auch Nicolle und Chaltiel sowie Galli-Valerio den Speichel der Ratten bisweilen virulent gefunden haben, darf man doch nicht vergessen, daß diese Verfasser die Virulenz des Speichels durch Einimpfung auf subduralem Wege oder auf der Hornhaut, nicht aber auf hypodermischem Wege, d. h. auf dem natürlichsten Wege, wie ich es getan habe, versucht haben. Man bemerke ferner, daß die Muriden Einspritzungen des Wutvirus gegenüber selbst in einer Verdünnung von 1 : 50 000 empfänglich sind.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß gesunde, aber infolge der Benagung irgend einer Leiche eines an Tollwut gestorbenen Tieres vom Wutmaterial beschmutzte Ratten sich gegenseitig anstecken, ja selbst indirekt die Tollwut auf andere Tiere übertragen können. Tatsächlich ist es bekannt, daß die Ratten leicht Tierkadaver verzehren, z. B. waren meine Zuchtratten im stande, in nur 24 Stunden große Hunde, die man ihnen zur Nahrung vorgeworfen hatte, bis auf die Knochen zu verzehren.

Brehm teilt mit, daß in einer Abdeckerei bei Paris die Ratten in einer Nacht die Kadaver von 35 Pferden verzehrten.

Alles dies ist aber weniger leicht bei den Mäusen, die weniger leicht die Kadaver von Hunden, Katzen, Wölfen und Füchsen verzehren.

2) Wenn es wahr ist, daß das Straßenvirus schnell bei den Ratten zunimmt, so ist es doch auch nicht weniger wahr, daß die Steigerung nicht leicht in natura auftreten kann, da bei den Ratten die furiöse Wut ebenso wie die Ansteckungsfähigkeit zweifelhaft ist. Andererseits wissen wir, daß, wenn das Straßenvirus in fixes Virus übergegangen ist, dasselbe auf diesem Wege noch weniger übertragbar ist.

In natura muß die Tollwut bei der Ratte und bei der Maus äußerst selten sein, und dies einerseits, weil man, wie ich bereits gesagt, nur einige unsichere Fälle kennt, und weil andererseits, obwohl diese Tiere ein gemeinschaftliches Leben führen, sich nach Belieben beißen und weiter leben können, ohne daß weder die Beißenden noch die Gebissenen ausgerottet werden, wie dies bei Hunden, Katzen der Fall ist, wahre Tollwutepidemien unten den Muriden herrschen müßten, was aber nie der Fall gewesen ist. Selbst unter den 40, von Flemming und Gardon

erwähnten Wutepidemien, die bis auf das Jahr 1271 zurückzuführen sind und bis in das Jahr 1884 reichen, ist nicht die geringste Andeutung für eine Tollwutepidemie der Muriden enthalten.

4) Wenn die Ratten die unbesiegbaren Verbreiter der Tollwut unter den Tieren darstellen sollten, so dürfte meiner Meinung nach die Häufigkeit dieser Krankheit unter den Katzen nicht so gering sein, mit welchen die Ratten am leichtesten zusammen kommen, gegenüber der Häufigkeit, mit der sie bei Hunden auftritt. Ebensowenig dürfte sie so selten sein unter den Pferden, dem Rindvieh, den Schweinen, den Schafen und den Hühnern. Die Ratten greifen in der Tat verschiedene von den Haustieren an. Z. B. benagen sie und durchbohren sie den Bauch der fetten Schweine, sowie die Füße der Truthähne und der Gänse. Hingegen gibt eine Statistik des Pasteurschen Institutes für den Zeitraum von 8 Jahren (1887—1895) in Bezug auf die Hunde einen Prozentsatz von 93,13 Proz., während sie in Bezug auf die Katzen nur auf 5,75 Proz., bei dem Rindvieh und bei den Pferden auf 0,18—0,22 Proz., bei den Hammeln und den Schweinen nur auf 0,02—0,07 Proz. kommt.

5) Es ist demnach mehr als wahrscheinlich, daß der wahre und gewöhnlichste Verbreiter der Tollwut (indem wir die Katze, den Wolf und den Fuchs übergehen) stets der Hund ist. In der Tat ist in den Ländern, wie z. B. Deutschland, Holland, Schweden und Norwegen, in denen die energischsten Schutzmaßregeln angewandt werden, die Tollwut unter den Menschen und den Tieren fast verschwunden. Diese Tatsache wäre nun aber nicht so deutlich wahrzunehmen, wenn die Ratte wirklich jenes Tier wäre, das man als Verbreiter der Tollwut betrachten könnte.

6) Endlich scheint kein Zusammenhang zwischen der Verbreitung der Tollwut in Europa, Afrika und in Amerika und jener der *Mus rattus* und der *Mus decumanus* zu bestehen. Früher befanden sich die Ratten in ihrer Heimat, Zentral-Asien und besonders in Persien und in Indien konfiniert; in Europa wie in Amerika kannte man dieselben nicht und dennoch war die Lyssa schon zu Zeiten des Celsus, des Celius und des Aurelianus, welche dieselbe sehr eingehend beschrieben, bekannt. Von der *Mus rattus* spricht zum ersten Male Albertus Magnus im XII. Jahrhundert und die *Mus decumanus* tritt noch viel später auf. Pallas erzählt, daß diese Tiere infolge eines furchtbaren Erdbebens, welches im Herbste 1727 stattgefunden, aus den kaspischen Ländern und den Steppen nach Europa eingewandert seien. 1732 wurden sie durch Schiffe in England eingeschleppt, und so verbreiteten sie sich nach und nach über den ganzen Erdkreis.

Nachdruck verboten.

Können die Mäuse und die Ratten sich die Tollwut durch Genuss von Wutmaterial zuziehen[1])?

Von **Claudio Fermi.**

Gohier will zum ersten Male im Jahre 1811 die Tollwut 2mal bei 3 Hunden hervorgerufen haben, indem er sie mit dem Gehirne von Tieren nährte, die an der Tollwut gestorben waren. Bestreicht man nach Galtier das Maul mit Wutmaterial, so soll man die Tollwut im Verhältnis von 4 : 30 erzielen.

Negative Resultate erlangten hingegen Delafond, Renault, Lafosse, Reynal, Bourrel und auch Decroix, indem er an sich selbst probierte. Nocard konnte die Wut nicht auf einen Fuchs übertragen, dem er das Gehirn und das Rückenmark von 6 tollen Hunden zu fressen gab.

Celli und de Blasi gaben kleinen Kaninchen und Meerschweinchen täglich während einer ziemlich langen Zeit eine ziemlich große Menge Mark von tollen Kaninchen. Die Tiere zeigten nie irgend ein verdächtiges Zeichen von Wut.

Di Mattei nährte mehrere Monate hindurch zwei Hunde mit Gehirn und anderen Wutorganen, ohne daß die Tiere gelitten hätten.

Bei verschiedenen Verletzungen (Wunden und Trauma) im Magen und in den Eingeweiden oder beim Bewirken künstlicher Katarrhe mittels chemischer Substanzen, oder beim Nähren der Hunde, wie oben gesagt wurde, widerstanden dieselben der Infektion. Die Galle, der Darm- und der Bauchspeicheldrüsensaft erwiesen sich ohne jegliche Wirkung auf das fixe Virus. Auch der Magensaft zeigte sich in den Versuchsbedingungen wenig aktiv.

Die unter verschiedenen Gesichtspunkten betrachtete Wichtigkeit des Gegenstandes und die von den verschiedenen Autoren erhaltenen, miteinander in Widerspruch stehenden Resultate regten mich an, das Studium dieses Themas über die empfindlichen Muriden zu wiederholen.

Da es aber geschehen könnte, daß die mit Wutmaterial genährten und in ein und denselben Käfig eingeschlossenen Tiere die Wut durch Biß, Kratzen oder auf irgend eine andere Weise übertragen könnten, so stellte ich neben den Versuchen, in welchen die zum Versuche bestimmten Ratten oder Mäuse sich zu 3 oder 4 in demselben Käfig befanden, andere an, in welchen die Tiere einzeln und getrennt gehalten wurden.

Aus den vielen von mir angestellten Versuchen werde ich bloß die erhaltenen Resultate angeben:

1) Zum Unterschiede von dem, was bei Kaninchen, Hunden, Katzen und Füchsen der Fall ist, können die Ratten und die Mäuse sich die Tollwut durch Genuß von Wutmaterial zuziehen.

2) Von den weißen Ratten, die gemeinschaftlich mit Wutmaterial genährt wurden, starben 78 Proz., von den weißen und schwarzen Mäusen 42 Proz.

Diese höhere Sterblichkeit der Ratten den Mäusen gegenüber könnte

1) Die erste vorläufige Mitteilung über diesen Gegenstand erschien in der Riforma Medica. Jahrg. XXI. 1905. No. 36. Die vollständige Arbeit wird im Archiv f. Hygiene erscheinen.

man durch das größere Bissigkeit der Ratten den Mäusen gegenüber erklären.

3) Von den Ratten und den Mäusen, die getrennt mit Wutmaterial genährt worden waren, starben 60 Proz.

4) Den Prozentsatz der Tiere, welche getrennt oder zusammen zu Grunde gingen, zusammenfassend, hat man eine Gesamtsterblichkeit von 60 Proz.

5) Die Muriden, welche den Genuß von Wutmaterial eine gewisse Zeit lang überleben, können, wie wir sehen werden, gegen eine subkutane Infektion von Straßen- und fixem Virus immunisiert bleiben.

6) Mehrere der negativen Resultate, die man bei der Infektion ab ingesti erhält, sind sehr wahrscheinlich durch die auf diesem Wege zu gleicher Zeit entstandene Immunisierung zu erklären.

Eine Entgegnung auf die Pallida-Kritik von Herrn Saling.

Von Dr. **Max Wolff** (Bromberg),
Wissenschaftl.-technischer Hilfsarbeiter am Kaiser-Wilhelm-Institut für Landwirtschaft.

(Schluß.)

Spirochätenbefunde im Gefäßsystem sind nach Saling einfach Endothelgrenzen und perivasculäre Endplexus, denn beide sind geschlängelt — das genügt! Und in einem Mischfall von Buschke und Fischer haben sich eben darum an den pathologisch veränderten Stellen „Spirochäten" nachweisen lassen, weil dort das Gewebe luetisch mazeriert und der Silberimprägnation zugängig gemacht ist! Genau so verhält es sich nach Saling bei totfaulen Föten. Außerdem können dort Silberspiralen außerordentlich leicht in Gefäßlumina etc. hineingerissen werden, wie Saling bei seinen zoologischen Studien und weichem Paraffin beobachtet hat. Schützs Angabe, daß Spirochäten auch im Innern der roten Blutkörperchen vorkommen, erledigt Saling damit, daß sie „nie" bestätigt ist. Sie wurde in No. 12 der Münch. med. Wochenschrift 1906 (!) gemacht!! Oder die Mevesschen Fibrillen kommen in Betracht! Kurz — Saling zeigt uns auch hier den Weg zur Erkenntnis des Spirochätentruges.

Herxheimer und Opificius haben schleifenförmig umgebogene oder ein Endkörperchen zeigende Spirochäten beschrieben. Auch da weiß Saling Rat. Es sind die Heldschen „Endkörperchen" — daß Herxheimer sich nicht der Silbermethoden bediente, tut nichts zur Sache. Varikositäten und Endfüßchen können möglicherweise überall vorkommen — ergo!

Damit hat Saling „im großen und ganzen die positiven „*Pallida*"-Befunde kritisch besprochen und gezeigt, daß die beschriebenen „Spirochäten" zum allergrößten Teile gar keine Organismen sind, sondern Gewebsbestandteile darstellen, die auch in jedem gesunden Wirbeltierkörper angetroffen werden können, bei richtiger Anwendung der Methode". Er ist „der Ueberzeugung geworden, daß besonders Nervenendfibrillen zu Verwechselungen Anlaß geben". Herr Prof. Botizat hat das seinem Assistenten bestätigt, indem er ein typisches Spirochätenpräparat aus

einer luetischen Nebenniere als Darstellung geschrumpfter Nervenendfibrillen agnoszierte!

Also, resumiert Saling, „solange neben den zarten und schwarzen als Parasiten bezeichneten Gebilden, die aber häufig untereinander in Verbindung stehen etc., nicht noch das ganze Nervenfibrillengeflecht, sondern nur die myelinhaltigen Achsencylinder, resp. auch die stärkeren, marklosen Nerven zur Darstellung kommen, solange müssen die feinen, Silberspiralen eben als identisch mit den Nervenendfibrillen angesehen werden, die sich — wie das so häufig bei der Nerventinktion zu geschehen pflegt — diskontinuierlich gefärbt haben. Solche Präparate, bei denen die Aufgabe der Cajalschen Endfibrillenmethode (sic!) nicht erfüllt wird, besitzen nicht die geringste Beweiskraft.“ Ferner — nach Herrn Saling —: Je schlechter das Objekt, desto „ausgeprägter“ die, allerdings diskontinuierliche, Endfibrillenfärbung. „Man“ — jedenfalls Saling — „wird zu dem Zugeständnis gezwungen, daß auch die Silbermethode keineswegs das vermochte, was man von ihr erwartet hatte, daß sie vielmehr erst recht dazu beigetragen hat, das Ansehen der *Pallida* in den weitesten Kreisen völlig zu erschüttern.“

Soweit Herr Saling!

Ich erwidere ihm:

1) Es wird dem Leser ein vollkommen verkehrtes Bild beigebracht, wenn, wie es auch Dr. Thesing seinerzeit getan hat, quasi statistisch nachzuweisen versucht wird, daß die Angaben eines Forschers darum als widerlegt gelten müssen, weil soundsoviel Autoren sich nicht mit eigenen Augen haben von der Existenz dessen überzeugen können, was der Gegner gesehen hat. Darauf läuft die ganze Polemik von Saling hinaus! Mit der Frage, welches Gewicht der Bestätigung der Schaudinnschen Befunde von berufener Seite — es handelt sich da um Namen wie Metschnikoff, Schütz u. A. — wohl beizumessen sein könnte, findet er sich in keiner Weise ab. Andere Autoren, und Saling zitiert selber solche, sprechen nur von dem, was sich wirklich behaupten läßt, daß nämlich der Nachweis der *Spirochaete pallida* sehr schwierig, und die Unterscheidung von der *refringens* in vielen Fällen ihnen persönlich nicht möglich gewesen ist. Saling hätte sich doch wahrhaftig mindestens sagen müssen, daß ein Mann von der wissenschaftlichen Vergangenheit Schaudinns, von dem jeder Zoologe weiß, daß er durch lange systematische Schulung des Auges eine Fähigkeit, feinste, nicht färberisch hervorgehobene Strukturen am lebenden Gewebe noch deutlich wahrzunehmen, an sich herausgebildet hatte — kurz, daß ein Mann von solcher Autorität nicht einfach widerlegt ist, wenn Forscher, die das Gebiet, das er seit Jahren wie kein zweiter kennt, eben erst betreten, Angaben nicht zu bestätigen vermögen, von denen sie annehmen können, daß sie der andere nicht zusammenphantasiert haben wird, während ihnen selbst die Möglichkeit fehlt, einen irgendwie positiven Beweis zu bringen, daß es sich um einen Irrtum gehandelt hat. Es gibt genug Zoologen und Aerzte, die über ein nicht geringes Maß von technischer Uebung verfügen, die doch, ohne sich zu schämen, zugegeben haben, daß es sich hier um Dinge handelt, die eine außerordentliche Uebung des Auges erfordern, wenn man sich erlauben will, die positiven Angaben darüber zu kritisieren. Das nenne ich exakte Kritik — eine Kritik,

die vor allen Dingen beim Kritiker selbst anfängt. Saling freilich bezeichnet und tut es ab mit dem „blinden Autoritätsglauben“. Es ist übrigens um so schwerer verständlich, daß der ehemalige Schüler Schaudinns, Siegel, ebenso wie Thesing und Saling, so leichten Herzens die tierische Natur oder doch wenigstens die Unterscheidbarkeit der *Spirochaete pallida* bestreiten, obgleich sich doch das Trumpfobjekt — der von Siegel entdeckte *Cytorrhyctes luis* — durch genau die Eigenschaft einzig und allein — man höre und staune — von simplen Zerfallsprodukten von Blutkörperchen unterscheidet, die es Schaudinn ermöglichte, seine *Pallida* von der *Refringens* zu trennen, nämlich die stärkere Lichtbrechung! Siegel hat niemals nachweisen können, daß sein *Cytorrhyctes* etwas anderes als Molekularbewegung und etwas stärkere Brechbarkeit zeigt als andere Körnchen im Gewebe. Ich dächte doch, wenn irgendwo Zweifel an der tierischen und ganz und gar an der pathogenen Natur eines Gebildes angebracht sind, daß sie dann zu allererst dem Siegelschen Organismus hätten gelten müssen. Es ist mir übrigens auch befremdlich, daß Saling mit einem Male die Spirochäten als echte Bakterien reklamieren will. Saling hätte doch mindestens die Pflicht gehabt, die bekannte Schaudinnsche Arbeit über den Generations- und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaete* sachlich zu widerlegen, bevor er es sich erlaubt, von einer „äußeren Aehnlichkeit gewisser Stadien der *Leucocytozoon*-Entwickelung mit Spirochäten“ zu sprechen. Es ist wahrlich keine Schande, wenn ein Zoologe zugibt, daß ihm vorläufig die Mittel fehlen, irgend etwas Beweisendes gegen die Schaudinnsche Arbeit vorzubringen. Und wenn Saling nur etwas genauer die einschlägigen Arbeiten gekannt hätte, so würde er wohl weniger erstaunt ausgerufen haben, daß am Ende die Syphilisspirochäten nur noch als besondere Entwickelungsstadien eines unbekannten Erregers oder besser eines zu den Trypanosomen gehörigen Organismus anzusehen seien! Es handelt sich hier wirklich um so gesicherte Tatsachen, daß man sich eine weitere Entgegnung in dieser rein systematischen Frage ruhig ersparen kann.

2) Mit einem Gemisch von Erstaunen und Unwillen wird jeder, der die Literatur objektiv beurteilt und eine gerechte Vorstellung von Schaudinns wissenschaftlicher Arbeit hat, bemerkt haben, wie Saling um einen entscheidenden Punkt, mit dem seine ganze Klage steht und fällt, herumgeht. Es handelt sich um die von Saling ziemlich spöttisch abgetane Giemsa-Epoche der Spirochätenforschung.

Völlig belanglos, ich betone es, ist für die Forschung die Versicherung Thesings, daß er die *Pallida* von anderen Spirochäten nicht hat unterscheiden können. Alle Achtung vor der Leistung, wenn jemand nachweist, daß zwei Gebilde identisch sind, die für nicht identisch gehalten wurden. Aber dieser Nachweis fehlt. Er ist weder von Thesing noch von Saling erbracht. Ebenso wie beide versäumt haben, nachzuweisen, daß gerade Schaudinns Farblösungen durch Fäulnisspirochäten verunreinigt gewesen seien. Es ist doch wirklich, da dieser Nachweis ebenso wie jeder Grund zu einem solchen Verdacht fehlt, etwas stark, einem Manne, der der erste in seinem Fach ist, darüber eine Belehrung zu geben, daß es notwendig ist, mit einwandsfreien Farblösungen zu arbeiten. Also, Thesing und Saling haben bisher weiter nichts vermocht, als zu

zeigen, daß Anfänger sehr viele Vorsichtsmaßregeln beachten müssen, wenn sie mit Sicherheit die *Spirochaete pallida* nachweisen und sich vor groben Irrtümern schützen wollen. Das ist gut und richtig, aber brauchte Schaudinn sich nicht erst von ihnen sagen zu lassen.

3) Ich verlange von den Herren, die für den Siegelschen *Cytorrhyctes luis* so warm eintreten, daß sie, etwa durch Mikrophotogramme, zeigen, wie gering die Differenz des Lichtbrechungsvermögens bei der *Pallida* und der *Refringens* und wie sehr sich die korpuskulären Elemente, denen Siegel den Rang von parasitären Organismen zuspricht, von Verunreinigungen und Zerfallsprodukten unterscheiden. Denn vorläufig könnte eine Kritik wie die Salingsche über den *Cytorrhyctes* Siegel jeder schreiben, der sich die Mühe nimmt, irgendwelche mehr oder weniger sauberen Präparate, ganz gleich, ob bei scharfer oder unscharfer Einstellung, zu photographieren und möglichst winzige Ausschnitte solcher Bilder mit den Siegelschen *Cytorrhyctes*-Tafeln zu vergleichen. Ich behaupte, daß solche Bilder tausendmal mehr Aehnlichkeit mit den *Cytorrhyctes*-Formen haben werden, als die wirklichen oder angeblichen „Nervenendigungen", die Saling kopiert und photographiert, mit der *Pallida*.

4) Erkläre ich Herrn Saling, daß es nur weniger Literaturstudien, ja nur des Nachschlagens der bekanntesten Lehrbücher bedurft hätte, um ihm die „Annahme" nahe zu legen, daß recht gut, nach Analogie zahlreicher, gut verbürgter Präcedenzfälle, die Möglichkeit besteht, daß ein Parasit überhaupt oder doch in seinen leicht nachweisbaren Entwickelungsformen, trotz zweifelloser Allgemeinerscheinungen in einer mehr oder minder großen Zahl von Organen, an ein einzelnes bestimmtes Organ gebunden sein kann, daß also der leichte Nachweis der *Pallida* in der Haut und das „Fehlen" in den inneren Organen, nur die Bedeutung zu haben brauchen, daß uns damit Fingerzeige gegeben werden, die auf gewisse Eigentümlichkeiten der Entwickelung des Parasiten und der Wirkungsweise und des Transportes des von ihm produzierten Virus hindeuten. Wer sagt Herrn Saling, daß der Lueserreger „ganz sicher" im Blute zirkuliere? Wer sagt ihm, daß es gerade die noch diesseits der Leistungsfähigkeit unserer Instrumente stehenden Formen sind? Wer sagt ihm, daß es mehr als vielleicht einige ganz vereinzelte Individuen sind, die durch das Blut zu inneren Organen transportiert werden? Ist der Nachweis von Gonokokken im Blute denn gelungen? Und wie sollen die gonorrhoischen Arthritiden sonst etwa erklärt werden? Hier liegt die Sache in gewissem Sinne ähnlich. Jedenfalls, wie findet sich Saling mit Schaudinns Angabe ab, daß die Spirochäten infolge fortgesetzter Längsteilung schließlich ultramikroskopische Dimensionen annehmen? Gar nicht! Solange er das nicht tut, ist es für die Bedeutung der *Pallida* gänzlich irrelevant, was Saling an negativen Befunden in frischen Primäraffekten etc. anführt.

5) Meine ich, daß Saling die Pflicht gehabt hätte, ehe er so schwerwiegende Vorwürfe gegen einen Mann erhob, der bis dahin in der ganzen wissenschaftlichen Welt unbestritten als unübertroffener Beobachter galt, den Nachweis zu bringen, daß Sobernheim und Tomaszewski zu Recht behaupteten, der Spirochäte komme nur eine ganz minimale, von der Braunschen Molekularbewegung nicht unterscheidbare Lokomotion zu. Wenn jede Arbeit das Resultat klassischer Untersuchungen schon in Frage stellen kann, dann werden wir bald jeden Tag eine neue Aera

haben. Den Beweis, „daß von Schaudinn der Nachweis der *Pallida* auch im lebenden Präparate nicht einwandfrei erbracht worden ist“, ist Saling uns vorläufig noch schuldig!

6) Es ist mir vollständig unbegreiflich, wie jemand, der „in der modernen Nervenhistologie einigermaßen auf dem Laufenden sein“ will, die Wirkung und die Darstellungsbreite der „modernen“ neurohistologischen Methoden so total ignorieren kann, wie dies Saling tut. Saling beruft sich im weiteren Verlaufe auf die Arbeiten von Apáthy, Bethe, Ramón y Cajal, Bielschowsky und mir, und gerade in unseren Arbeiten würde er, wenn er sie nur etwas mehr gelesen hätte, anstatt, wie er es getan zu haben scheint, nur auf Abbildungen irgend welcher krummer und geschwärzter Fibrillen Jagd zu machen, Hunderte von Angaben gefunden haben über die betrübende Heimtücke aller, und nicht zuletzt gerade dieser ausgezeichneten neuesten Silbermethoden in ihren sämtlichen Modifikationen, wie sie von Ramón y Cajal, Bielschowsky und mir angegeben worden sind. Eine Heimtücke, die darin besteht, daß man — und zwar besonders in allen nicht spezifisch nervösen Organen und am allermeisten in der Haut — alles mögliche gefärbt bekommt, bloß die Nerven nicht, die man sucht! Saling stellt die Sache ja so dar, als ob man sich nur die nötigen Färb- und Imprägnationsflotten zu beschaffen und das zu untersuchende Objekt hineinzuwerfen brauche und dann damit ein wahres Schöpferwort gesprochen habe. Gerade in der von ihm zitierten Arbeit habe ich gesagt, „daß auch unsere besten Methoden zur Darstellung der nervösen Elemente an einer wahren Manie leiden, alles andere an der Peripherie zu färben, bloß gerade nicht das Nervöse“. Und so kann ich nur wiederholen, daß Saling nun und nimmer auf dem Wege, den er beschritten hat, den Nachweis erbringen kann, daß die Autoren der Silberepoche der Spirochätenforschung leichtfertig auch nur in der Auswahl der Methode gewesen seien. Noch jeder Autor, den Saling zitiert, hat — falls er sich überhaupt über die Methodik der Silberimprägnation ausließ — auf das Unberechenbare des Erfolges mit nicht geringem Bedauern hinweisen müssen.

7) Auch bei der Suche nach Abbildungen peripherer Nervenendapparate ist Saling nicht mit der erforderlichen Kritik zu Werke gegangen. Niemals sehen Nervenendigungen so aus wie die Salingschen angeblichen „Pseudospirochäten“ in der Haut. Saling photographiert ein dichtes Gewirr von kurz abgebrochenen spiraligen Fäden. So sehen Nerven überhaupt nicht aus, Bindegewebe höchstens in dünnen, schlecht montierten und zerrissenen Gefrierschnitten und bei oberflächlicher Betrachtung. Was Saling an Leber- und Pankreasnerven abbildet, hat mit solchen überhaupt nichts und mit Spirochäten vortäuschenden Strukturen erst recht nichts zu tun. Was Saling beweisen will — daß nämlich bei schwächerer Vergrößerung die in Wirklichkeit bestehende Kontinuität der scheinbar diskontinuierlichen spiraligen Strukturen von Spirochäte-ähnlicher Form sichtbar werde —, das wird von seinen eigenen Mikrophotogrammen Lügen gestraft! Außerdem, warum bildet er nicht einen Schnitt durch die Haut eines sicher nicht syphilitisch infizierten und infizierbaren Tieres, wie etwa eines Meerschweinchens ab, und demonstriert uns an ihm die höchst sonderbare Anordnung des nervösen spirochätiformen Endapparates? Ueberhaupt

muß ich bekennen, daß ich auch mit der äußersten Phantasie keine Aehnlichkeit zwischen dem Spirochäten-Silberbilde und irgend einer der übrigen auf den Salingschen Originalnervenphotogrammen wiedergegebenen nervösen Strukturen habe erkennen können. Das gilt noch mehr von der Kopie aus der Londonschen Arbeit. Obwohl ich nicht viel von der Darstellung halte, die Ramón y Cajal, van Gehuchten und andere Anhänger der Kontakttheorie von den Nervenendfüßen gegeben haben, muß ich doch gestehen, daß mir, wie schon erwähnt, eine schlechtere Darstellung als die Londonsche noch nicht zu Gesicht gekommen ist. Ich habe in mehreren Arbeiten nachgewiesen, daß Ramón y Cajal und die Anhänger seiner Lehre mit unvollständigen Imprägnationen gearbeitet haben. Dasselbe hat Held an der Hand der von Ramón y Cajal selbst angewandten Methode ebenfalls dargetan. Aber die Bilder von London leisten in der Tat das Menschenmögliche an Unvollständigkeit und Grobheit der Imprägnation. Es ist also ganz unstatthaft, aus diesen Bildern irgend etwas Negatives über die Spirochätenbefunde im Zentralnervensystem abzuleiten.

8) Ich bestreite entschieden, daß allein die sekundäre Schrumpfung durch Alkoholbehandlung oder ganz und gar die postmortalen Veränderungenen, die in einem Gewebe, das mehrtägiger Fäulnis überlassen ist, auftreten, irgendwie zu so regelmäßigen Spiralen führen, wie sie notwendig sind, um Spirochäten vorzutäuschen. Denn einmal irrt Saling, wenn er von der einmütigen Angabe sämtlicher Neurologen spricht, „daß zu einer vollständigen Tinktion die Verwendung lebensfrischen Materials notwendig sei“. Es scheint, daß Saling meine Arbeit „Ueber die Ehrlichsche Methylenblaufärbung und über Lage und Bau einiger peripherer Nervenendigungen“ [1]) unbekannt geblieben ist, in der ich den Nachweis erbracht habe, daß gerade die klassische vitale Färbung absolut nichts mit der Vitalität des Gewebes zu tun hat, und daß im Gegenteil alles ungefärbt bleibt, was noch lebt, und daß, was mir auch später von anderen Autoren ausdrücklich bestätigt worden ist, und gelegentlich auch vor mir eine Reihe von Forschern angegeben haben, die „vitale“ Färbung geradezu ein Reagens (in negativem Sinne) auf das Lebende und auf die lebenswichtigen Strukturen angesehen werden kann.

Mir ist sogar erinnerlich, daß, wenn ich nicht irre, Siegmund Mayer angegeben hat, an dekapitierten Fröschen, die 4 Tage gelegen hatten, noch gut „vitale“ Färbungen erhalten zu haben. Also trifft schon ganz allgemein die Behauptung Salings nicht zu. Sie trifft aber noch weniger für die Silbermethoden zu; hat doch Bielschowsky, der die beste ausgearbeitet hat, angegeben, daß gerade bei launischem Material (z. B. bei Nagern und Kaltblütern) gute Resultate erhalten werden können, wenn dieses erst 24 Stunden post mortem fixiert wird. Endlich behaupte ich ganz entschieden, daß gerade das Bindegewebe, was doch nach Saling immerhin auch mit in Betracht kommt, sich höchstens ganz selten einmal diskontinuierlich imprägniert.

Ich habe solche Präparate überhaupt nie zu Gesicht bekommen.

9) Ich muß darauf aufmerksam machen, daß die sogenannten Neurofibrillen in der Haut und anderswo, wie sie Saling abbildet und beschreibt, nicht nur, wie erwähnt, weder Bindegewebs- noch Neurofibrillen sind, sondern daß auch in Bezug auf die Endigungsweise, von der Saling

1) Archiv für Anatomie u. Physiologie. Anatomische Abteilung, 1902.

mehrfach spricht, ein prinzipieller Irrtum seinerseits zu berichtigen ist. Es gibt weder ein Ende des Neuroplasmas, wie ich in meiner Methylenblauarbeit und später mehrfach gezeigt habe, noch ein Ende von Neurofibrillen, wie Apáthy, Bethe, Smyrnow und neuerdings Bielschowsky und ich selbst durch Untersuchungen der peripheren wie zentralen Reizumleitungsapparate feststellen konnten. Die Neurofibrillen sind vielmehr nichts anderes als in sich selbst zurücklaufende Schleifen, eine Endigung ist also hier prinzipiell ausgeschlossen, und das Neuroplasma, das weiter nichts als eine mehr oder weniger in die Länge gezogene, von den primären plasmatischen Verbindungen abzuleitende Brücke darstellt, geht kontinuierlich in das Ektoplasma der innervierten Zelle über. Alles in allem geben also komplette Imprägnationen — und das hätte Saling erst beweisen müssen, daß auch bei lebensfrischem Material im Prinzip dieselben Spirochäten vortäuschenden Bilder erhalten werden können wie bei älterem, auf das sich übrigens Schaudinns eigene Arbeiten nie bezogen haben — sowohl andere Bilder in Bezug auf das Ende der Silberimprägnation im Verlauf der reizleitenden Struktur wie in Bezug auf die Verlaufsrichtung und die Verteilung der proximal von diesem Ende befindlichen Verästelung. Aus nicht einer einzigen Originalfigur von Saling geht hervor, daß er eine wirkliche Nervenimprägnation vor sich gehabt hat. Zweifellose Nerven enthalten allein seine Kopien! Und, wie nochmals hervorgehoben sein mag, bloßer Bildervergleich beweist gar nichts, selbst der Nachweis, daß Levaditi und Andere keine Spirochäten gesehen hätten mit den von ihnen angewandten Methoden, bewiese wenig. Beweisen würde erst die Widerlegung der Originalbefunde Schaudinns, und auch da erst die Wiederlegung der Angaben, die er auf Grund seiner Beobachtungen am Lebenden gemacht hat.

10) Fast dasselbe ist zu der Stellungnahme Salings gegenüber den Arbeiten Bertarellis und Volpinos zu sagen. Ihre Vermutung, daß bei tertiärer Lues „gründlich veränderte Formen in Frage kommen könnten“, ist durchaus beachtenswert. Man kann sich darüber streiten — besonders, da Schaudinn ausdrücklich angibt, daß die Spirochäten unter gewissen Bedingungen ultramikroskopische Dimensionen annehmen — ob diese Formen auch sichtbar und mit den angewandten Methoden darstellbar sein können. Wenn die genannten Autoren angeben, daß sie in „kleinen runden, bald schwarzen, bald gelben Körperchen“ diese Ruheform erblicken, so hätte Saling die Aufgabe gehabt, zu untersuchen, ob diese Körnchen identisch mit gewöhnlichen Silberniederschlägen sind oder nicht. Seine bloße Versicherung, daß sie es „offenbar“ sind, beweist rein gar nichts.

Zudem befindet er sich gründlich im Irrtum, wenn er glaubt, daß diese Niederschläge eine Folge der Quecksilberbehandlung sind, da er sie „genau“ so nach Sublimatfixation erhalten hat. Ich überlasse es den Aerzten, ihr Urteil über die Vorstellbarkeit einer gleichen Alteration der Nervenfibrillen nach Schmierkur wie nach Koagulation durch Quecksilberchlorid zu fällen. Dagegen kann ich Saling versichern, daß er total im Irrtum ist, wenn er irgend einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Sublimatfixation und den körnigen Niederschlägen im Silberpräparat behauptet. Ich habe nicht nur nach Sublimatfixation Fibrillenimprägnationen erhalten von einer Schärfe, als ob sie in Stahl gestochen wären, sondern sie auch

oft genug, aus unbekannten Gründen, bei gewissen schwierigen Objekten (besonders im Zentralnervensystem von Nagern und Kaltblütern), ferner stets, nach vorschriftsmäßiger Fixation, beim besten Objekte, dann erhalten, wenn ich zu kurz versilberte. **Also die ganze Theorie von Saling ist haltlos.**

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf den vorstehenden Artikel des Herrn Wolff betreffend die „Spirochäten"-Frage.

Von Dr. **Theodor Saling**, Berlin.

Aus den bisherigen Kritiken meiner ersten *Pallida*-Arbeit (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI u. XLII) hat sich wenigstens das Eine deutlich ergeben, daß man nicht imstande ist, einen auf Tatsachen beruhenden Einwand gegen meine Ausführungen vorzubringen. Weder Levaditi noch Hoffmann[1]) haben etwas anderes als leere Gegenbehauptungen aufgestellt, die sehr leicht zu entkräften waren. Herr Wolff versucht nun vom Standpunkte eines „Neurologen" meine Auffassung zu diskreditieren. Wenn Wolff die Ansicht vertreten hätte, daß die strittigen Silberspiralen nicht Neurofibrillen, sondern Bindegewebselemente wären und solche Behauptung eingehend und überzeugend motiviert hätte, so wäre meinerseits wenig eingewendet worden; denn sowohl in meiner ersten wie in der jüngst veröffentlichten Kritik (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII) habe ich ausdrücklich betont, daß eine Entscheidung, ob es sich um Nerven- oder Bindegewebselemente handelt, oft ganz unmöglich ist, ja daß für manche Fälle mit Bestimmtheit auch nicht nervöse Fasergebilde (wie feinste elastische Fäserchen, Zellgrenzen, fibrilläre Randreifen der Erythrocyten) in Betracht kommen. Selbst die gewiegtesten Kenner histologischer Verhältnisse, denen ich hier und außerhalb meine Präparate vorlegte, vermochten in manchen Fällen kein entscheidendes Urteil zu fällen, stimmten mit mir aber darin überein, daß sie die Spiralen für Mazerationsprodukte hielten. Wolff bestreitet aber nicht nur die Nervennatur, sondern überhaupt die Gewebsnatur der Silberspiralen und bekennt sich zu der Meinung Schaudinns.

Die Wolffsche Kritik stellt, wie ich zeigen werde, das Schwächste dar, was je auf diesem Gebiete geleistet worden ist. Denn mehr als die Hälfte seiner Arbeit ist einfach Abschrift meiner Kritik, der schließlich auch einige „Einwände" folgen, die aber leider bloße Gegenbehauptungen sind, ohne jeden beweiskräftigen Hintergrund.

Was zunächst den Passus betrifft, der eine Kopie meiner Arbeit darstellt, so danke ich dem Autor verbindlichst für die Reproduktion und gütige Weiterverbreitung meiner Ideen. Nur möchte ich Herrn Wolff bitten, in Zukunft — sofern er sich der Gänsefüßchen bedient —

---

1) Meine Antwort an Levaditi ist in der Wien. klin. Rundsch. 1906. No. 47/48 erschienen. Die Publikation der gegen Hoffmann gerichteten Schrift verzögert sich leider, da die Redaktion der Berl. klin. Wochenschr. sich weigerte, auch mir zur Entgegnung das Wort zu erteilen, trotzdem aber meinen am 21. Nov. 1906 eingesandten Artikel 14 Tage lang zurückhielt!

meine Aussagen auch genau wörtlich zu zitieren. Wie leicht wird durch Verstellen, Weglassen oder Zusatz eines Wörtchens die Klangfarbe, ja auch der Sinn eines Ausspruches verändert.

Nun zu den Erwiderungspunkten Wolffs! Ich kann mich hier kurz fassen, denn ich habe in meiner gleichzeitig mit der Wolffschen Entgegnung erschienenen zweiten Kritik sowie in den Beantwortungen Levaditis und Hoffmanns (beide in der „Wien. klin. Rundschau") meine durch zahlreiche Experimente gewonnene Ueberzeugung hinreichend dargelegt. Wolff hat überhaupt keine Kontrollversuche gemacht, daher kann sein Urteil nicht hoch bewertet werden. Dagegen sucht Wolff den Mangel an positivem Beweismaterial zu bemänteln durch Redewendungen wie: „Aber leider ... hat nicht Saling, sondern Levaditi recht" ... „Die Richtigkeit der Aussage von Kolmer bestreite ich durchaus" ... „Was Saling auf Taf. I, Fig. 1—6 abbildet, sind keine Nervenendfibrillen, das kann ich versichern. Ich kann ihm ferner versichern, daß etc." ... „ich muß aber sagen, daß die schlechtesten Cajal-Präparate immer noch bessere Bilder geben, als die Londonschen Abbildungen zeigen" ... „ich bestreite entschieden, daß allein die sekundäre Schrumpfung durch Alkoholbehandlung oder ganz und gar die postmortalen Veränderungen ... irgendwie zu so regelmäßigen Spiralen führen" ... „Zudem befindet er (Saling) sich gründlich im Irrtum" u. a. m. Also nichts als bloße Behauptungen! Wer nach Beweisgründen sucht, sucht in Wolffs Kritik vergebens. Aber mit solchem „Versichern, Bestreiten etc." führt man doch keinen wissenschaftlichen Beweis, ebensowenig wie mit dem berühmten „Gefühl fürs Typische"!

Die im fanatischen Tone gehaltene Entgegnung Wolffs entbehrt aber nicht der heiteren Seite. Die Urteile Wolff gegenüberstehender Neurologen (wie z. B. Kolmers) werden einfach für falsch erklärt. Die Abbildungen Londons sind mit einem Male die schlechtesten, die es gibt, weil ja sonst die Auffassung des Herrn Wolff nicht stimmen würde! Ebenso dürfen Sobernheim und Tomasczewski, welche die Kühnheit hatten, auf die Molekularbewegung hinzuweisen, vor dem hohen Forum Wolffs nicht bestehen. Auch Buschkes und Fischers Aussage, daß selbst der „Erfahrenste" einer Täuschung unterworfen sein könne, wird dahin korrigiert, nicht der „Erfahrenste", wohl aber ein „sonst tüchtiger Mikroskopiker" könne sich irren. Auch „erspart" Herr Wolff dem Leser meinen Bericht über die täuschende Aehnlichkeit von Zellgrenzen. Warum auf einmal so zartfühlend? Nun, ich werde noch an anderer Stelle darauf zurückkommen, daß ein erheblicher Teil der sogenannten „Silberspirochäten", z. B. in den Levaditi-Manouélianschen Originalpräparaten, mit solchen Grenzlinien identisch ist, und Wolff wird demnächst auch von anderer Seite hören, daß gekräuselte Zellgrenzen „Silberspirochäten" vorgetäuscht haben.

Ferner wirkt es amüsant, wie Wolff, vom Thema ganz abschweifend, Bakteriologen und Protozoenforschern, die doch vorwiegend die Leser dieser Zeitschrift sind, in breiter Rede auseinandersetzt, daß es „Nervenendfibrillen" nicht gäbe. Derartige Erörterungen — zumal sie noch strittig sind — gehörten doch wohl mehr in neurologische Werke; möge dort an Ort und Stelle Herr Wolff recht viel zur Klärung dieser Streitfrage beitragen! Im übrigen habe ich bereits betont, daß ich nur der kürzeren Ausdrucksweise wegen die Bezeichnung „Nervenendfibrillen" gewählt habe, darunter die letzten, feinsten Ausläufer der Nervenfasern verstehe, aber keineswegs zu der obigen Streitfrage Stellung nehme.

Wolffs Entrüstung erscheint also gänzlich unmotiviert und kommt sehr post festum!

Es ist falsch, wenn Wolff die Sache so darstellt, als ob ich nur mit Rücksicht auf die angewandte Methodik, welche von Ramón y Cajal für Nervenfibrillen erfunden wurde, die sogenannten „Silberspirochäten" für Nervenfibrillen gehalten hätte. Ich habe dies hauptsächlich aus dem Habitus und der Verteilung der Spiralen geschlossen, wie sich Jeder leicht aus meinen Schriften überzeugen kann. Herr Wolff bringt hingegen kein einziges Argument vor, welches zu der Annahme Berechtigung gäbe, daß die Silberspiralen selbständige Organismen, ja sogar Parasiten seien; er ist in Wirklichkeit machtlos, er hat gar keinen Gegenbeweis in Händen, daher auch die übernatürliche Erregtheit! Herr Wolff will überreden, nicht überzeugen! Und weil es ihm nicht gelingen will, mich mit Tatsachenmaterial zurückzudrängen, versucht er es mit kleinen Eigentümlichkeiten. Da werde ich zu einer Thesingschen Behauptung („Spirochäten zum Teil aus der Farbstofflösung stammend") in Beziehung gebracht, mit der ich gar nichts gemein habe; da wird mir zugerufen, daß ich „für den *Cytorrhyctes luis* warm eintrete", während ich zu ihm mit keiner einzigen Silbe Stellung genommen habe; da wird mein „objektiver Zeichner" zum „Laien" gestempelt, obwohl er ein promovierter Zoologe ist; da bestätigt Herr Prof. Botezat „seinem Assistenten" die Identität der „Silberspirochäten" mit Neurofibrillen, obwohl ich nie in einem abhängigen Verhältnis zu diesem Herrn gestanden habe; aber es mußte ja meine Bestätigung durch Botezat dem Leser möglichst „verständlich" gemacht werden!!

Noch einige andere Bemerkungen. Der Autor wirft mir vor, daß ich die Herxheimerschen Endschleifen mit in die Debatte zöge, obwohl sie gar nicht mit Silber dargestellt worden seien. Es scheint Herrn Wolff unbekannt zu sein, daß Nervenendschleifen auch nach Methylenblaufärbung sichtbar werden.

Wolff beschuldigt mich ferner, daß ich mich um die Giemsa-Epoche der Spirochätenforschung „herumdrücke". Mit nichten! Herr Wolff wird auch über die „Giemsa-*Pallida*" eine Aufklärung erfahren, die ihm aber voraussichtlich ebensowenig passen wird. Nachdem von Schaudinn die sogenannte „Silberspirochäte" mit einer echten Spirochäte identifiziert worden war, ergab sich als dringendste Pflicht, die hierdurch entstandene Verwirrung zu beseitigen und zunächst die sogenannte „Luesspirochäte" wieder auf ihren ehemaligen und einzigen Aufenthaltsort — die Hautaffektionen — zu beschränken. Nachdem dies gelungen war, wandte ich mich erst ausschließlich der nach Giemsa gefärbten Spirochäte zu. Also ein wenig Geduld!

Wolff meint, man könne ja auch (nach dem Vorgange Schaudinns) glauben, „daß die Spirochäten infolge fortgesetzter Längsteilung schließlich ultramikroskopische Dimensionen annehmen". Man soll mir mit derartigen Phantastereien und Sophistereien fernbleiben! Mir scheint es bald, als ob an der Protozoennatur (— sie wird übrigens nur noch von den deutschen Dermatologen verfochten —) der Spirochäten nur deswegen so starr festgehalten wird, um sich hinter dem bequemen „Pleomorphismus" verstecken zu können und alle etwaigen Zweifler angesichts der überwiegenden Zahl jener Fälle, in denen die „*Pallida*" völlig fehlt, darüber mit dem Hinweis zu beruhigen, daß ja in diesen Fällen Entwickelungsstadien vorliegen könnten, die vorderhand noch ultramikroskopisch sind!

Je weniger Sachliches Wolff für seine Behauptungen vorzubringen weiß, um so mehr legt er Gewicht auf ganz subjektive Gesichtspunkte, und zwar besonders auf die „Autorität Schaudinns“. Fast auf jeder Seite wird mir vorgeworfen, wie ich es wagen könne, an der „Autorität eines Schaudinn“ zu zweifeln. Ich sehe mich daher veranlaßt, mit einigen Worten auf diese Frage einzugehen. Ich selbst bedaure am meisten, daß Schaudinn nicht mehr die Polemik gegen mich leiten konnte. Meine erste Kritik war $1^1/_2$ Monate vor seinem Tode in Druck gegeben worden, woraus zur Genüge hervorgeht, daß ich mit Schaudinn persönlich eine Aussprache herbeiführen wollte. Da er gestorben ist, werden mir seiner Person gegenüber große Einschränkungen auferlegt durch den Grundsatz: „De mortuis nihil nisi bene“. Gewiß hat Schaudinn viel geleistet, das wird Niemand, am wenigsten ein Zoologe, leugnen. Daraus aber die Schlußfolgerung zu ziehen, daß Schaudinn quasi „unfehlbar“ sei und sich nicht irren könne, das ist doch zu weit gegangen. Uebrigens möchte ich doch — da Wolff mich auf Schaudinns Arbeit „Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte“ verweist und die darin ausgesprochenen Ideen für „so gesicherte Tatsachen“ hält, „daß man sich eine weitere Entgegnung in dieser rein systematischen Frage ruhig ersparen“ könne — konstatieren, daß Schaudinns Behauptungen durch die Untersuchungen von Novy und Mc Neal eine Wiederlegung erfahren haben, die trotz der Angaben von Sergent immer noch zu Recht besteht. Ich kann an dieser Stelle nicht ausführlich auf diese Dinge eingehen. Die Zeit wird lehren, wieviel an den von Schaudinn aufgestellten Entwickelungscyklen richtig ist. Ferner ganz allgemein gesagt: Eine absolute Autorität oder gar Unfehlbarkeit gibt es nicht! Errare humanum est. Ich protestiere aufs das schärfste dagegen, daß Jeder, der mit der Schaudinnschen Auffassung nicht übereinstimmt, als „Neider“ (Winter) oder gar als „Tempelschänder“ (Hartmann und Prowazek) hingestellt wird!

Die Wolffsche Entgegnung hat ihren Zweck völlig verfehlt, denn der Autor beweist — was die Hauptsache und wie es zur Widerlegung meiner ausführlichen und eingehend begründeten Erörterungen nötig gewesen wäre — weder die Organismennatur der sog. „Lues-Silberspirochäte“, noch führt er ein Argument dafür an, weshalb die von mir gegebene Deutung der Silberspiralen im luetischen Gewebe unrichtig ist. Wolff beruft sich immer nur auf sich selbst und vergißt — indem er sagt: „was Saling auf Taf. I. Fig. 1—6 abbildet, sind keine Nervenfibrillen, das kann ich versichern“ — vollkommen, daß er diese bloße Gegenbehauptung lediglich auf die Erfahrungen fundiert, die er gelegentlich seiner Nervenstudien am gesunden Gewebe gemacht hat. Daß infolge des durchgreifenden luetischen Krankeitsprozesses und der hochgradigen Gewebsmazeration, wie sie meist den „Silberspirochäten“-Untersuchungen zu Grunde liegt, auch die feinen Nervenendausläufer tangiert sind und einen anderen Habitus zeigen als im normalen Gewebe, berücksichtigt Wolff gar nicht! Immerhin geben, wie Wolff zugesteht, die von mir zum Vergleich herangezogenen Londonschen Nervenendschleifen den Spirochätenanhängern zu denken; daher blieb nichts anderes übrig, als die Bilder von London für „das Menschenmögliche an Unvollständigkeit und Grobheit der Imprägnation“ zu erklären.

Sehr kennzeichnend ist schließlich die Bemerkung Wolffs: „Selbst der Nachweis, daß Levaditi und Andere keine Spirochäten gesehen

hätten mit den von ihnen angewandten Methoden, bewiese wenig". Wirklich? Wer ist harmlos genug, Herrn Wolff das zu glauben?!

Wolffs Kritik reiht sich also den beiden seiner Vorgänger (Levaditi und Hoffmann) als gleichwertiges Seitenstück an. Wenn Herr Wolff ernst genommen sein und seinen Zweifeln Nachdruck verleihen will, so möge er folgendes nachweisen: 1) Daß die sogenannte „Lues-Silberspirochäte" mit der „*Spirochaete pallida*" der Hautaffektionen identisch ist (besonders wichtig ist hierfür die färberische [Anilinfarben] Darstellung der „*Pallida*" im Schnitt und Ausstrich zu „Myriaden"), 2) daß die „*Spirochaete pallida*" nur im luetischen Organismus und dort konstant vorkommt und 3) daß die „*Spirochaete pallida*" kein Saprophyt, sondern der „Lueserreger" ist! Hierfür sind Beweise bisher noch nicht erbracht worden!

Im übrigen erkläre ich aber Herrn Wolff, daß ich ihm nicht mehr Antwort geben werde, falls er wieder bloße Gegenbehauptungen aufstellt.

Nachtrag: Die soeben erschienene Schrift von Gierke werde ich später zugleich mit noch anderen in Aussicht stehenden Entgegnungen erledigen.

Kritische Betrachtungen über die sogenannte „Syphilisspirochäte".

I. Die „Silberspirochäte".

[Aus dem Zool. Institute der Königl. Universität Berlin (Direktor Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Fr. E. Schulze).]

Von Dr. **Theodor Saling**, Berlin.

Mit 12 Figuren.

(Fortsetzung.)

Obwohl ich auf die „Silberspirochäten" in den Drüsenorganen nicht nochmals besonders eingehen wollte, reproduziere ich doch noch in Fig. 8 eine Abbildung von Babes und Mironescu (2), welche



Fig. 8.



Fig. 9.

Fig. 8. Sog. Silberspirochäten in der Leber eines luet. Kindes. (Nach Babes.)
Fig. 9. Spiralige Metallniederschläge im Carcinom. (Nach Friedenthal.)

die „Parasiten“ im Lebergewebe veranschaulichen soll. Ich kann mir nicht versagen, der großen Uebereinstimmung halber in Fig. 9 eine Friedenthalsche Figur (20) anzuschließen, die im Carcinom zufällig mit Quecksilber künstlich dargestellte „*Pallidae*“ wiedergibt. Friedenthal sagt: „Die in der Abbildung wiedergegebenen Metallspiralen im Carcinomgewebe sind weder Nervennetze noch elastische Fasern, sondern Metallniederschläge in Spiralform in verdichteten Protoplasmastrecken bei Abwesenheit jedes Parasiten.“ Ich stelle ohne weitere Erläuterung die beiden Bilder 8 und 9 gegenüber, denn sie beweisen mehr als Worte zu tun vermögen.

Wie man nun aus der Anwesenheit der „Silberspirochäten“ im Epithel der Harnkanälchen gefolgert hatte, daß die „Parasiten“ auch in das Lumen gelangen und damit den Urin (Levaditi und Schlimpert) infizieren könnten, so war man andererseits so glücklich, auch im Mekonium die „*Pallida*“ zu entdecken. Entz findet sie im Mekonium nur in vereinzelten Exemplaren, Simmonds (48) dagegen „zu dicken Büscheln und Klumpen vereinigt“, neben gut erhaltenen „Pallidae“ auch massenhaft Fragmente, und meint, daß ihre Ausscheidung wohl durch den Darm stattfände. Ich selbst sah diese Spiralen ebenfalls in großer Zahl im Lumen des Darmes einer hochgradig mazerierten Totgeburt, außerdem aber auch in ganz enormen Mengen in der Darmwandung selbst. Die Fig. 10 gibt eine Darmzotte wieder, die sich von links her in das Darmlumen hineinerstreckt. Die Mazeration ist so gründlich, daß von erhaltener Struktur nicht mehr die Rede ist, und man kann deutlich bei Durchsicht des Präparats sehen, wie sich ganze Zottenkomplexe loslösen und ins Lumen fallen. Die Zotte wimmelt nun von Silberspiralen, ja bei *a* und *b* sieht man auch im Mekonium einzelne Spiralen, die natürlich von der Darmwand abgeworfen wurden durch allgemeinen Zerfall des Gewebes. Wie schnell gerade die Darmwand mazeriert, erkennt man ja daraus, daß sich das Zottenepithel sofort nach dem Tode abhebt und daher sogar bei frischen Leichen zersprengt gefunden wird. Die schwarzen Spiralen sind weiter nichts als durch Mazeration deformierte Neurofibrillen; daß es sich in Wirklichkeit um solche handelt, bewies mir die Wahrnehmung, daß man trotz der starken Verquellung noch zuweilen einen ehemaligen submukösen Plexus angedeutet findet. Auch Versé (52) fiel ja — wie ich schon in voriger Arbeit erwähnte — die Aehnlichkeit der „Spirochäten“ mit Nervenfasern auf. Außerdem mögen sich an der spirochätenartigen Deformierung auch Fäserchen bindegewebiger Natur beteiligen.

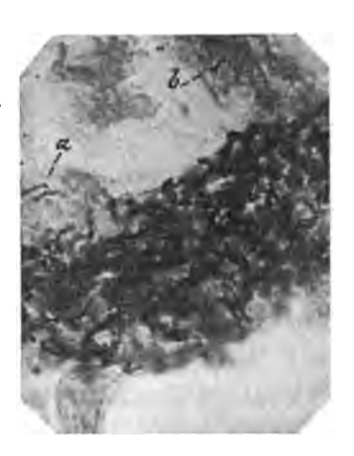


Fig. 10. Silberspiralen in Darmzotte und Mekonium einer mazerierten Totgeburt.

Ich muß nun nochmals genau auf die „Spirochäten“befunde im Gefäßsystem eingehen, da Hoffmann auf dem Kongreß in Bern meine Kritik damit abzutun versuchte, daß er auf die Anwesenheit von „Spirochäten“ im Lumen der Gefäße hinwies. Es ist dies der einzige Punkt, von dem sich die Spirochätenanhänger noch Rettung aus der Not

versprechen. Hoffmann scheint aber entweder meine Kritik nur flüchtig gelesen oder sie nicht verstanden zu haben, denn ich habe dort klar und deutlich gezeigt, wie die sogenannten „*Pallidae*" im Gefäßlumen aufzufassen sind. Mit der von mir gegebenen Deutung der Silberspiralen in den Wandungen der Gefäße scheint man sich ja glücklicherweise abgefunden zu haben; wer aber immer noch nicht von dem großen Reichtum der Gefäßwände an Nervenendausläufern überzeugt ist, der möge sich nur in die ausführlichen Werke unserer großen Neurologen, wie Retzius (37) u. a., vertiefen und daraus lernen, daß nicht nur in der Wandung von Venen und Arterien nervöse Endgeflechte liegen, sondern auch die Kapillaren von marklosen Nervenfasern umsponnen werden.

Jetzt aber soll noch das Verweilen der „Spirochäten" in den Gefäßen beweisend sein für die Parasitennatur derselben. Wirklich? Nun dann habe ich folgendes zu erwidern: Es scheint noch nicht zur allgemeinen Kenntnis gelangt zu sein, daß die „*Pallida*" im Blute nur in sehr vereinzelten Fällen und in sehr spärlichen Mengen gesehen wurde. Ist man nun der Ansicht — auch ich schließe mich ihr nach meinen bisherigen Erfahrungen an — daß das Blut nur vorübergehend den Lueserreger beherbergt, so sollte man jedenfalls die Beweise für seine parasitäre Bedeutung weniger im Blute, als besonders am Orte seiner verheerenden Tätigkeit erbringen. Es muß übrigens ausdrücklich festgestellt werden, daß die in der ersten Zeit mittels der Giemsa-Methode gemachten angeblichen Spirochätenbefunde im Blute ganz unsicher sind und auch später nicht bestätigt wurden.

Was die im Lumen der Gefäße beschriebenen „Silberspirochäten" anlangt, so kann — wie ich schon früher erörtert habe — dreierlei der Fall sein:

1) Die Spiralen liegen nur scheinbar im Lumen, wie das z. B. die Blaschkosche Zeichnung einwandfrei erwiesen hat. Sie können in diesem Falle einerseits in der im Tangentialschnitt getroffenen Gefäßwandung (Blaschko) liegen, was man natürlich bei einiger Uebung im Mikroskopieren leicht entscheiden kann; andererseits können sie auf sattelförmigen Verdickungen oder längsgefalteten Anschwellungen der Gefäßwandungen liegen, welches Krankheitsbild so häufig — siehe Heubner (24) — bei der Lues der Gefäße beobachtet wird. Bei entsprechender Schnittrichtung kann es auch dann den Eindruck erwecken, als ob die Spiralen im Lumen lägen. In diesen Fällen handelt es sich meiner Meinung nach um feine Nervenfibrillen, die der Gefäßwandung entstammen.

2) Es liegen die Spiralen zweifellos im Lumen und sitzen hier den Erythrocyten auf [Schütz (43), Blaschko (11)]. Ich habe bereits darauf hingewiesen, daß es sich in diesem zweiten Falle um den fibrillären Randreifen der roten Blutkörper handelt, der zuweilen spiralig sich kräuselt und mit besonderer Vorliebe mit Silber imprägniert. Eine spiralige Veränderung der Randzone konnte ich sogar einmal bei einfacher Methylenblaufärbung beobachten. Von Befriedigung eines „Sauerstoffhungers" der „Parasiten" (Blaschko) kann also keine Rede sein.

3) Die Spiralen verweilen im Lumen und liegen in vereinzelten Exemplaren zwischen den Blutkörperchen zerstreut. Dann könnte es sich ebenfalls um persistierende Randreifen zugrunde gegangener Blutkörper oder auch um spiralig geformte Fibrinfäden handeln; in der Mehrzahl der Fälle aber, und ganz speziell, wo „Silberspirochäten" vor-

handen sein sollen, gibt es eine andere Erklärung. Wer jemals das Glück genossen hat, einer „Silberspirochäten“-Demonstration im Lumen der Gefäße beizuwohnen, der wird kaum sein Erstaunen darüber haben bemeistern können, wie man bei einer so allgemeinen Gewebsmazeration überhaupt noch von „Lumen“ zu reden wagt. Ich habe selbst solche Gefäße gesehen, aus deren ganz verquollener Wandung förmliche „Spirochäten“- — alias Neurofibrillenbüschel — in das sogenannte Lumen hineinhängen. Auch Frohwein (21) beschreibt „einzelne Exemplare scheinbar zum Teil in der Wand steckend, zum Teil ins Lumen hineinragend“! Die spiralig deformierten Neurofibrillenfragmente hängen eben bei zerstörter Gefäßwandung — dasselbe gilt für die Alveolar-, Harnkanälchen-, und Darmwandung — in das Lumen hinein und erscheinen dann als dort angesiedelte „Spirachäten“. Der „Geübte“, der in den Schriften der Spirochätenverteidiger eine so große Rolle spielt, sollte allerdings diese Verhältnisse richtig beurteilen können! Mitunter werden aber auch bei Anfertigung der Schnitte, zumal wenn der Paraffinblock zu weich oder zu spröde ist, durch das Messer einzelne Spiralen aus der Wandung ins Lumen mitfortgerissen werden. Hoffmann irrt also, wenn er glaubt, daß meine Deutung unzulässig sei, und der Befund von „Spirochäten“ im Gefäßlumen nur allein den Schluß auf eine parasitäre Bedeutung gestatte; da aber die Tendenz herrscht, die „*Pallida*“ unter allen Umständen zu retten, so wird eben jede Annahme akzeptiert. Gerade der Hoffmannsche Artikel (25) leidet an großer Beweisschwäche; denn wenn der Autor uns vom Vorhandensein der „Spirochäten“ im Lymphgefäßlumen überzeugen will und dann einen Schnitt zeichnet, der auf einem Raum von etwa 100 Gewebskernen nur eine einzige Spirale enthält, die obendrein an der innersten Schicht der Gefäßwandung gelegen ist, so kann nicht verlangt werden, daß dieser Befund als „vollgültig“ anerkannt wird. Die gleiche Beurteilung verdient die zweite Figur des Hoffmannschen Artikels, die eine in „Längsteilung begriffene *Pallida*“ innerhalb der Blutgefäßwandung veranschaulichen soll. Ich muß offen gestehen, ich finde an diesem „Parasiten“ alle notwendigen Merkmale einer dichotom verzweigten Nervenfaser, wie deren so viele in Gefäßwandungen angetroffen werden.

Ich könnte nun noch verschiedene andere Gründe ins Feld führen, die für die Nervennatur der „Silberspirochäten“ sprechen, z. B. daß in solchen Geweben, die arm sind an nervösen Fasern, auch nur vereinzelte „Spirochäten“ gefunden werden, oder die Erscheinung, daß sich an manchen Stellen der Silberpräparate demonstrieren läßt, wie die „Spirochäten“ durch gefärbte, meist aber ungefärbte Fasern noch miteinander in Verbindung stehen können. Doch ich will es vorläufig genug sein lassen.

Noch einige Worte über die Lebensweise der „*Pallida*“. Wir sind darüber recht genau orientiert, wie sich ohne weiteres aus den einzelnen, wörtlich zitierten Angaben ergeben wird, denen ich keine weiteren kritischen Erörterungen beizufügen für nötig halte. Also: Während die „*Pallida*“ nach Blaschko sehr sauerstoffbedürftig ist und deshalb von ihm mit Vorliebe in der Nähe der Körperoberfläche oder auf den Blutkörperchen reitend konstatiert wird, so führt sie jedoch nach den Erfahrungen Beers eine ausgesprochen anaërobe Lebensweise! Während sie im Blute ihren „Sauerstoffhunger“ befriedigt (Blaschko) oder „in den kleineren Blutgefäßen und perivaskulären Lymphspalten eine Zuflucht findet“ (Lipschütz), wird sie

nach anderer Meinung (Petrescu) vom Blute zerstört! Während die intracelluläre Lage der „*Pallida*" einerseits dadurch erklärt wird, daß sie einen schändlichen „Zellenparasitismus" betreibe, findet sie andererseits in den angebohrten Zellen „Schutz gegen die vertilgende Tätigkeit der phagocytischen Elemente (Bandi und Simonelli), und während der „Parasit" nach der einen Auffassung in den unverändert gebliebenen Gewebsteilen völlig fehlt, ist er nach der anderen Ansicht gerade dort in „verblüffenden Mengen" vorhanden (Versé)! Schließlich sei noch erwähnt, daß die „*Pallida*" in luetischen Gewebsschnitten in „Myriaden" aufzutreten, in Ausstrichen ebenderselben Organe aber unsichtbar zu bleiben pflegt!

Hier möchte ich gleich einige Bemerkungen über Züchtungsversuche der „*Pallida*" anschließen, obwohl sie nicht direkt in den Rahmen dieses Artikels, der sich mit der „Silberspirochäte" befaßt, direkt hineingehören, denn letztere ist nie gezüchtet worden und wird auch nie gezüchtet werden. Beer (4) will die *Pallida* noch 33 Tage, ja — wie Hoffmann in einem Index anfügt — noch 50 Tage nach der Anfertigung eines mit Vaselin- und Wachsverschluß versehenen Präparats lebend beobachtet haben. Berücksichtigen wir aber, daß der Autor sein Material Primäraffekten, nässenden Papeln [!] und indolenten Bubonen entnommen hat, so muß ich bekennen, daß alles dies im Verein mit der anaëroben Lebensweise den einwandfreiesten Beweis liefert, daß Beer nicht den Lueserreger, sondern einen ganz harmlosen Saprophyten gezüchtet hat. Denn der eigentliche Lueserreger dürfte so sehr an das lebende Gewebe und an die Körpertemperatur gebunden sein, daß er schon bald nach dem Tode des Wirtes zugrunde geht, wie man daraus entnehmen kann, daß etwas ältere Leichenteile schon gar nicht mehr infektionstüchtig sind. Im gleichen Sinne muß ich den Reuterschen (38) Versuch bewerten, der darin besteht, daß aus Papeln der äußeren Haut [!] Gewebssaft ausgepreßt und dann in sterilen Kapillaren 2—3 Tage lang im Brutschrank bei 38° gehalten wurde. Neben zahlreichen „*Pallidae*" von gewöhnlichem Typus zeigten sich alsdann auch atypische und verrieten eine deutliche, „allerdings bei Zimmertemperatur sehr langsame" Beweglichkeit. Sollte das nicht eventuell eine Molekularbewegung gewesen und Reuter nicht auf den Fehler verfallen sein, auf den Sobernheim und Tomasczewski (cf. meine vorige Arbeit p. 812) hingewiesen haben? Schließlich haben Leuriaux und Geets (28) ihre Züchtungsversuche publiziert. Sie sind so zuvorkommend, einen ganzen botanischen Garten zu präsentieren, aus dem sich Jeder nach Neigung und Geschmack die brauchbaren „*Pallida*"-Formen wird mühlos heraussuchen können. Die Züchtungsversuche sind also total mißglückt! Man wird sich aber bei weiteren derartigen Versuchen nicht an der Oberfläche des Körpers gelegener Affektionen bedienen dürfen, weil man dann die überall in Zersetzungsherden vorkommenden saprophytischen Spirochäten züchtet, sondern muß innere, bakterienfreie Organe eines durch keine Mischinfektion tangierten, luetischen Körpers als Ausgangspunkt wählen, wenn man Beweiskraft für sein Experiment beanspruchen will. (Schluß folgt.)

Ueber die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

II. Bericht.

Von Privatdozent Dr. **E. Bertarelli**, Assistent.

Mit 1 Figur.

(Schluß.)

Das Kaninchen wurde in Beobachtung behalten. Am 25. März beobachtete man ein unregelmäßiges Geschwür mit dicken Rändern und trübem Grunde an den Nasenflügeln. Es wurden Ausstrichpräparate mit dem Geschabe des Geschwürs angefertigt und auch kleine Stücke desselben abgetragen, die nach der Silbernitratimprägnationsmethode behandelt wurden. Die Prüfung war für die Spirochäten negativ, die Verletzung hatte vom histologischen Standpunkt aus nichts Charakteristisches.

Das Kaninchen wurde marantisch und verendete am 26. April.

Bei der Sektion fand sich außer einer beginnenden Fettdegeneration der Leber nichts Bemerkenswertes. Stücke aus allen Organen wurden in Silbernitrat imprägniert, in keinem aber fanden sich Spuren von Spirochäten.

Die Untersuchung der Stücke lieferte also außer der vorerwähnten fetten Entartung und einer deutlichen Atrophie der Dünndarmschleimhaut nichts Besonderes.

II. Kaninchen. Am 23. Februar wird mittels Einritzens dem rechten und linken Auge eines Albinokaninchens das Geschabe einer Schleimhautpapel inokuliert.

Eines der Augen bot darauf nichts Abnormes. Ende März wurde es ausgeschält, bot aber keine besonderen Erscheinungen.

Am anderen Auge erscheint die Hornhaut nach 45 Tagen trübe, infiltriert, chagriniert; man befindet sich einer wahren, ziemlich ausgeprägten Hornhauttrübung gegenüber.

Das Auge wird am 20. April ausgetragen. Bei Prüfung der in Silbernitrat imprägnierten Stücke wird in der ganzen Hornhaut das Vorhandensein zahlreicher Spirochäten festgestellt. In ihrem Aeußern, ihren Eigentümlichkeiten und ihren Struktureinzelheiten erinnern sie genau an die in Kaninchen I beobachteten Formen, sind jedoch viel weniger zahlreich und an den verschiedenen Stellen weniger dicht gedrängt.

In der Nähe des Injektionspunktes fehlen auch die zerstückelten und körnigen Formen nicht. Die histologische Läsion ist als solche nur wenig ausgesprochen und beschränkt sich auf eine weitreichende Lymphzelleninfiltration. Das Epithel fehlt hie und da; an einigen Stellen scheint es angeschwollen zu sein, das Protoplasma der Epithelzellen ist granulös.

Das Kaninchen verendet am 27. Mai. Die Autopsie hat nur eine starke Einwanderung des *Cysticercus pisiformis*, Atrophie der Darmschleimhaut und Hyperämie (?) der Nebennieren dargetan.

Auch in diesem Falle wurden alle Organe sowohl mit der Silbernitratimprägnationsmethode wie auch in den gewöhnlichen histologischen Präparaten der Untersuchung unterzogen.

Es konnte jedoch nichts Bemerkenswertes festgestellt werden.

Ich bemerke hierbei sofort, daß an zwei Kaninchen mit den Hornhautstückchen Inokulationen ins Auge und sub duram vorgenommen worden sind; leider aber verendeten beide kurz darauf aus anderen Gründen.

III. Kaninchen. Es wird ihm am 2. April durch Ritzung der Hornhaut an beiden Augen Schleimhautpapelmaterial inokuliert.

Ein Auge reagiert nicht.

Am anderen Auge tritt am 6. Mai eine typische parenchymatöse Keratitis auf, was Herr Dr. Bayardi, Professor der Augenheilkunde, der das Tier selbst sah, bestätigte.

Am 15. Mai wird das Auge ausgeschält, die Läsion ist fast auf die ganze Hornhaut ausgedehnt, die weiß aussieht und Gefäße aufweist, die von der unregelmäßigen, chagrinierten Sklera ausgehen.

Bei Prüfung ergeben sich zahlreiche, oft geradezu bündelweise angehäufte Spirochäten. Schwere parvicelluläre Infiltration, Gefäßneubildung in der Nähe des Limbus, zwischen den Hornhautschichten Abfall des Epithels, Spannung der Bindegewebsbündel der Hornhaut.

Mit äußerst kleinen Stückchen der Hornhaut werden zwei Kaninchen in die vordere Hornhaut injiziert.

Das III. Kaninchen stirbt am 26. Juni ohne weitere Läsionen. Nach Sektion wurde Hepatisierung der rechten Lunge, beginnende, trübe Entartung der Leber festgestellt.

Auch da wurden alle Stücke fixiert, aber weder die histologische noch die bakterioskopische Prüfung lieferten bemerkenswerte Daten.

In dem nicht injizierten Auge wurde zu verschiedenen Malen die Injektion syphilitischen Materials vorgenommen, aber ohne Erfolg.

Von den Uebertragungen wird später die Rede sein.

IV. Kaninchen. Am 21. April Inokulation nach Ritzung auf beiden Augen mit dem einer Schleimhautpapel entstammenden Material.

Ein Auge bleibt gesund.

Das andere reagiert. Am 22. Mai tritt eine bald intensiver werdende Trübung auf. Am 30. Mai besteht eine wahre, parenchymatöse Keratitis mit deutlicher Hornhautgefäßneubildung.

Am 9. Juni tritt die Läsion langsam zurück. Am 15. Juni ist sie noch weiter zurückgetreten.

Das Auge wird ausgetragen, es werden zwei Kaninchen in die vordere Hornhaut inokuliert und eines in die sichtbaren Schleimhäute, und die Stücke fixiert.

Das Kaninchen lebt noch und hatte danach keine weiteren Läsionen. Versuche, das andere Auge auch zu infizieren, sind wiederholt ohne Erfolg geblieben.

Aus der Prüfung ergibt sich leichte Infiltration der Hornhaut, die in der Nähe des Limbus stark zum Ausdruck kommt.

Von Spirochäten keine Spur. Nur an einigen Stellen sieht man Körnchen oder Fragmente, die zu zerstückelten Spirochäten zu gehören scheinen, doch ist ein bestimmtes Urteil nicht möglich.

V. Kaninchen. Am 15. Mai wird durch Ritzung den beiden Hornhäuten das einem Initialsyphilom entstammende Material injiziert.

Ein Auge bleibt gesund, das andere reagiert nach 35 Tagen. Leichte Keratitis.

Wird am 2. Juli ausgeschält, als die Regression zu beginnen schien. Leichte Infiltration. Keine Spirochäten.

VI. Kaninchen, Albino. Am 7. Juni wird durch Ritzung beider Augen spirochätenreiches Schleimhautpapelmaterial injiziert. Ein Auge bleibt gesund trotz wiederholt stattgefundener Infizierungsversuche.

Am 6. Juli zeigt das rechte Auge eine leichte Spur von Reaktion sowie leichte Trübung beim Limbus und leichte Ulceration an der Oberfläche.

Am 16. Juli wird das Auge ausgehoben. Die Verletzung der Gewebe ist sehr leicht, die Spirochäten sind nur in spärlicher Anzahl vorhanden, doch fast in allen Feldern finden sich immer einige.

Das Tier verendet dann wenige Tage nachher ohne jeden bemerkenswerten Befund.

Das andere Auge hat nicht reagiert.

VII. Kaninchen, Albino. Am 9. Juni Inokulation vermittelst Ritzung eines ziemlich viele Spirochäten enthaltenden, einem Syphilom entstammenden Materials an beiden Augen.

Am 16. Juni scheinen die Wunden geheilt zu sein.

Am 26. Juni bietet das rechte Auge eine in den nachfolgenden Tagen stark zunehmende Trübung dar.

Am 8. Juli sieht die ganze Hornhaut trübe, gedehnt und etwas konisch aus, vom Limbus aus greifen auf die Hornhaut neugebildete Gefäße über, die von der Sklera herkommen.

Am 9. Juli wird das Auge ausgenommen. Bei der histologischen Prüfung ergibt sich eine sehr starke Leukocyteninfiltration; an einigen Stellen liegen die Gewebsbündel der Hornhaut derart, daß sie Lücken bilden, die zum guten Teil von Lymphzellen ausgefüllt werden. Schwach vertreten sind die Plasmazellen, das Epithel ist fast ganz erhalten, die Zellen jedoch sehen im allgemeinen angeschwollen oder körnig aus. Der Spirochätenbefund ist positiv, sie finden sich in ziemlich bedeutender Anzahl vor, und auch hier treten sie weniger deutlich da vor Augen, wo die histologische Verletzung stärker ausgesprochen ist. Das Charakteristische ihrer Form, ihrer Lokalisierungen entspricht vollauf dem, was bei anderen Kaninchen beobachtet worden ist.

Am 12. Juli erscheint auch das andere durch Ritzung inokulierte Auge leicht infiltriert und am 30. Juli hat sich eine typische parenchymatöse Keratitis vollauf ausgebildet mit Trübung der Hälfte der Hornhaut und ausgesprochener Gefäßneubildung.

Das ist der einzige Fall mit bilateraler Läsion, den ich beobachtet habe. Das zweite Auge heilt dann langsam ab und bietet am 12. August keine sichtbare Spur von Verletzung mehr.

VIII. Kaninchen. Am 26. Juli Inokulation in beide Hornhäute mit spirochätenreichem Schleimhautpapelmaterial.

Am 16. Juli bietet eines der Augen eine stark ausgesprochene Bindegewebsneubildung, das Auge ist angeschwollen und gespannt, die Hornhaut trübe infiltriert, gespannt und konisch. In der Nähe der Innest-stelle, wo ein kaum wahrnehmbares Papelstückchen eingeführt worden war, sieht man eine beginnende Gefäßneubildung, die sich auf die Hornhaut ausdehnt.

Am 18. Juli Ausnahme des Auges. Einige Stücke werden fixiert und andere in die Vorkammer von Kaninchen injiziert.

Die histologische Prüfung ergibt eine starke Infiltration; zusammen mit zahlreichen Lymphzellen hat man auch eine nicht unbedeutende Anzahl Plasmazellen. Die Maschen des Bindegewebes der Hornhaut sind gespannt und infiltriert. Das Epithel hier und da körnig oder ange-

schwollen und an anderen Stellen nicht vorhanden. Spirochäten können nicht nachgewiesen werden.

Fälle mit negativem Ausgang. Mißerfolge bei Uebertragung des syphilitischen Virus auf die Hornhaut wurden bei 7 Kaninchen verzeichnet, die, sei es durch Ritzung oder Einführung von Fragmenten in die Vorkammer an beiden Augen inokuliert worden waren. Das Material kam in 5 Fällen von Schleimhautpapeln und 2mal von Syphilomen. Bei den 7 Kaninchen wurden, abgesehen von den auf die experimentelle Operation folgenden Reizungserscheinungen, keine anderen wahrgenommen.

Aus den vorgegebenen analytischen Daten gehen also nachstehende Tatsachen hervor: In einer bedeutenden Anzahl von Fällen, die nach meinen relativ zahlreichen, wenn nicht sehr zahlreichen, Experimenten 50 Proz. übersteigt, ist es möglich, bei einem Kaninchen nach Inokulation syphilitischen Materials in die Augenvorkammer oder vermittelst Ritzung in die Hornhaut eine Verletzung mit ganz bestimmten Merkmalen zu erhalten. Die Verletzung hat gewöhnlich das Aussehen einer verschieden starken und ausgedehnten, parenchymatösen Keratitis, von einer einfachen Infiltration bis zu einer äußerst stark ausgeprägten Keratitis mit Gefäßneubildung und vollständiger Trübung der Hornhaut. Histologisch ist die Läsion hauptsächlich durch mehr oder weniger schwere Lymphzelleninfiltration gekennzeichnet, bei der oft auch eine Neigung zu perivaskulärer Anhäufung um die neugebildeten Gefäße herum oder in der Nähe der Gefäße des äußeren Randes der Sklera zutage tritt. Auch das Epithel kann in verschiedener Weise in Mitleidenschaft gezogen werden, es kann nämlich da zu körniger Entartung mit Trübung des Protoplasmas oder aber zuweilen auch zu vollständiger Nekrose und Abfall des Epithels selbst kommen. Auch die Iris kann an dem Prozeß beteiligt sein, denn nicht selten stoßen wir auf Irissynechien. Die Infiltration trägt gewöhnlich den Charakter einer Mononukleose, zuweilen aber, wenn auch selten, können im Herde als Kennzeichen des Entzündungsvorgangs auch Plasmazellen angetroffen werden.

Die *Spirochaete pallida* findet sich besonders häufig in der verletzten Hornhaut vor und niemals außerhalb derselben. Ich wiederhole hier nicht noch einmal, was bereits früher über ihr Aussehen, über wahrscheinliche Reproduktionsformen gesagt worden ist. Immerhin aber ist es auch möglich, Läsionen ohne Spirochäten anzutreffen.

Die Summe der beobachteten Erscheinungen führt uns nun zu der Anschauung, daß zuerst die Vervielfältigung der Spirochäten stattfindet und dann die Infiltration und Ulceration. Daraufhin verschwinden die Spirochäten nach und nach, so daß es bei einem gewissen Punkte möglich ist, keine Spirochäten mehr vorzufinden, während die anatomische Verletzung noch besteht. Das ist nun um so wahrscheinlicher, als die Spirochäten sich in einer gewissen Entfernung vom Punkte der stärksten

Läsion sehr zahlreich beobachten lassen, in der Läsion selbst aber fehlen oder sehr selten sind.

Die Spirochäten finden sich nur im Bindegewebe der Hornhaut und haben niemals Beziehungen zum Epithel, wahrscheinlich infolge der anaërobischen Bedürfnisse des Keimes, die von Anderen nachgewiesen worden sind.

Die primäre Hornhautverletzung tritt nach einer zwischen 2 bis 6 Wochen oder wenig mehr schwankenden Inokulationsdauer zutage; wird sie sich dann selbst überlassen, so modifiziert sie sich in einigen Wochen, wie ich bei anderen Kaninchen zu beobachten Gelegenheit hatte, bei denen das Auge nicht ausgeschält worden ist.

Andere syphilitische Erscheinungen konnte ich im Kaninchen nicht nachweisen. Die einzige Verletzung (Kaninchen I), die einen Verdacht aufkommen lassen konnte, hat beim bakterioskopischen Examen keinerlei Ergebnis geliefert, und in allen anderen Fällen war es trotz geduldiger Nachsuchungen unmöglich, irgend etwas ausfindig zu machen, das an das Auftauchen anderer syphilitischer Lokalisationen im Kaninchen zu denken berechtigte.

Es sei hier bemerkt, daß die Versuche mit Meerschweinchen (4) vollständig fehlgeschlagen sind (Ritze in die Hornhaut).

Ueber die Empfänglichkeit des Kaninchens will ich hier einige, nicht interesselose Beobachtungen anschließen.

Vor allem ist für das Gelingen des Innests die Wahl der Methode von Wichtigkeit. Der beste Weg sind nach meiner Ansicht tiefe Hornhautritzungen in der Nähe des Limbus. Nur muß man dafür Sorge tragen, daß die Augenlider direkt danach mit der vorderen Seite des Auges in Berührung kommen, was gelingt, wenn man dieselben mit einem Lidhalter für einige Zeit festhalten läßt, nachdem die eingeritzte Zone gut mit dem virulenten Material gerieben worden ist.

Einen guten Dienst leistet auch die Inokulation feinster Stückchen syphilitischen Materials in einen Hornhauteinschnitt, wodurch es dann in die Vorkammer gedrängt wird. Die Gefahr einer anderen Infektion besteht nicht, wenn das Stück (Syphilom etc.) auch nur etwas abgerieben war; mir selbst ist es bei verschiedenen Versuchen nur einmal vorgekommen, ein Hypopyon zu bewirken, das mir den ganzen Versuch definitiv verdarb.

Einen gewissen Einfluß mag immerhin die Rasse des Kaninchens ausüben, doch ist die hierüber angesammelte Erfahrung zu gering, um als begründet angesehen werden zu können. Wenn hierüber ein Zweifel möglich wäre, möchte ich sagen, daß die Albinos mir empfänglicher vorkommen, fest steht nur, daß sie in zwei Fällen sehr gute Dienste geleistet haben.

Auch die Wahl des Materials muß seine Bedeutung haben. Das bringt mich jedoch noch nicht zu dem Glauben, daß absolut sehr spiro-

chätenreiches Material verwandt werden müsse, denn in zwei Fällen war das innestierte Virus sehr arm an Spirochäten und trotzdem wurde eine schöne Keratitis erzielt.

Ist das Kaninchen, wenn es einmal von den Spirochäten in der Hornhaut infiziert worden ist, immunisiert? Man wäre wohl dazu verleitet, ja zu sagen, denn nur das Kaninchen II gab einen gegenteiligen Ausfall.

Die Ausnahme fällt in diesem Falle schwer ins Gewicht, doch ist dabei auch zu berücksichtigen, daß es absolut gelungen ist, beide Augen gleichzeitig zu infizieren, niemals aber war es möglich, auf dem gesund gebliebenen Auge irgend eine Läsion zu erzeugen.

Man könnte also behaupten, daß man im allgemeinen nur eine einzige primäre Läsion erhalten kann und daß nach dem Auftreten derselben das Tier auf keine weitere Virusinokulation mehr reagiert.

Doch ist diese Tatsache nicht ausnahmslos. Schließlich ließe sich noch eine Frage aufwerfen: Sind die angetroffenen Verletzungen auch wirklich syphilitische?

Nun kann man begreiflicherweise nicht übereinstimmen in der Ausdehnung, die dem Wort Syphilis zugestanden werden kann, und auch daran denken, daß man eben im Kaninchen nicht den anatomisch-pathologischen Symptomenkomplex dessen hat, was wir als Syphilis definieren.

Vom ätiologischen Standpunkt aus betrachtet, kann jedoch kein Zweifel darüber bestehen, daß die beobachtete Läsion syphilitischer Natur ist, ob man dabei dann davon spricht, eine syphilitische Keratitis erhalten zu haben oder aber eine *Spirochaete pallida*-Kultur aus der Hornhaut, kann an der Sache nur wenig ändern.

Die Tatsache an und für sich, daß man auch, wenn die Spirochäten schon verschwunden sind, eine Hornhautverletzung haben kann, führt doch wohl dazu, anzunehmen, daß es sich hier um mehr als um eine reine Spirochätenkultur handelt.

* * *

Versuche einer Transmission der Syphilis auf das Kaninchen auf anderen Wegen und Serientransmission von Hornhaut auf Hornhaut.

Auch auf andern Wegen habe ich die Uebertragung der Syphilis versucht. Die betreffenden Versuche beschränkten sich auf 3 Kaninchen, die mit verschiedenartigem syphilitischen Material sub duram injiziert worden sind, ein Kaninchen, das sub duram mit injizierter Kaninchenhornhaut inokuliert wurde, und zwei Versuche mittels subvenösen und endovenösen Innests.

Die Ergebnisse sind bis heute negativ.

Besseren Erfolg hatte schon der Versuch einer Serienübertragung.

Zweimal gelang sie sehr wohl und ich erhielt dabei eine schöne parenchymatöse Keratitis nach Einführung eines infizierten Hornhautstückes in die Vorkammer.

Im ersten Falle (Hornhaut des III. Kaninchens) begann die Keratitis nach 22 Tagen und erreichte ihren Höhepunkt ungefähr am 35. Tage nach dem Innest.

Nach Ausschälung des Auges fand ich, daß die Hornhaut von einkörnigen Elementen infiltriert und reich an Spirochäten war.

In einem zweiten Fall (Kaninchen VI) trat die Verletzung nach 15 Tagen auf, das Auge wurde sofort geopfert. Auch hier hatte sich eine leichte Keratitis gebildet mit Gegenwart von vermehrten Spirochäten.

Bei anderen zwei Kaninchen (Hornhaut des VII. Kaninchens) scheint im Augenblick, in dem ich schreibe, die Ansteckung positiv zu werden und es wird dann die Serienübertragung versucht werden.

Inzwischen ist damit doch schon nachgewiesen, daß die experimentelle Infektion von Kaninchen auf Kaninchen ins Reich der Möglichkeit gehört, und man auf diese Weise eine wirkliche Hornhautkultur der Spirochäte zu erhalten vermag.

Interessant wäre es nun, nachzuforschen, ob die Spirochäte nach diesen Passagen für den Affen noch infizierend ist, womit, wenn es wirklich der Fall wäre, das Experimentum crucis der ätiologischen Natur der Spirochäte gegeben wäre.

Tatsächlich können diese Serienübertragungen doch nur den Wert von Spirochätenkulturen haben, und keineswegs kann daran gedacht werden, daß ein Teil des primitiven, dem ein Kaninchen inokulierten, syphilitischen Virus geblieben wäre. Die Zeitdauer und die Reibung der Augenlider verhindern uns, daran zu glauben. Es ließe sich dagegen vielleicht einwenden, daß die Spirochäte in der Hornhaut wachse und neben ihr das syphilitische Virus (angenommen aber nicht zugegeben, daß es etwas anderes wäre als die Spirochäte), doch leuchtet es ohne weiteres ein, daß die Einwendung nur schwachen Boden hat und schließauch für die künstlichen Kulturen gelten kann.

Welches nun auch immer die Bedeutung dieses Vorgangs[1]) sein mag, so steht doch fest, daß die Reinfektion der Hornhäute des Kaninchens gelungen ist, indem eine typische Spirochätenkeratitis erhalten worden ist.

P. S. Diese Arbeit war bereits geschrieben, als in der Deutsch. med. Wochenschr. 1906. No. 36 die Arbeit von Greef und Clausen erschien, die voll und ganz die wichtigste der von mir gemachten Aufstellungen bestätigt, d. h. das Eindringen und das Wachstum der Spirochäten in der Hornhaut des Kaninchens.

In der Zwischenzeit sind zwei andere Arbeiten erschienen: E. Saling, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI—XLII. W. Schulze, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 37, in denen man den Glauben erwecken möchte, daß die nach der Silbernitratmethode gefärbten Spirochäten gar keine Spirochäten sind. S. u. S. fügen ihrer Arbeit auch Abbildungen bei (die Schulzes schrecklich), die nichts beweisen und höchstens zu folgenden Schlüssen führen können: Unter den Elementen des Gewebes finden sich einige, die zuweilen eine ferne Aehnlichkeit mit den Spirochäten haben können.

---

1) Die R. Accademia di Medicina zu Turin gab infolge dieser Mitteilungen das Verlangen kund, daß vom Unterrichtsministerium die Mittel geliefert werden, damit diese, vom ätiologischen Standpunkte aus so wichtige Frage ihre Lösung finde.

Wer die Präparate meiner Hornhautstücke gesehen hat, in denen die Spirochäten so deutlich sind, daß sie auch den fernsten Zweifel beseitigen können, wird den Irrtum der beiden Verfasser leicht einsehen. Dem ersten derselben habe ich auch seiner Zeit ein Präparat eingesandt, das unzweifelhaft sein Urteil ändern wird.

Mit Recht hat Greef bemerkt, daß, wer nur einmal elastische Fasern und Nervenfibrillen gesehen hat, nicht mehr einer Verwechselung verfallen kann.

Es ist nicht meine Absicht, hier näher auf die leicht nachweisbaren, von S. u. S. begangenen Fehler einzugehen, denn es wäre dies eine zwecklose Arbeit. Ich möchte dem Vorgesagten nur noch beifügen, daß man in den normalen Hornhäuten nur auf eine der Spirochätenformen stößt, während in den von Syphilis infizierten Hornhäuten deren unzählige beobachtet werden.

Nachtrag.

Während das Manuskript sich schon im Druck befand, habe ich meine Untersuchungen fortgesetzt und werde auf einige besser beleuchtete Vorgänge demnächst zurückkommen.

Unterdessen kann ich schon mitteilen, daß es mir gelungen ist, bei 3 Versuchen 3mal eine III. Serienübertragung und bei 3 Versuchen 2mal eine IV. Uebertragung und 1mal eine VI. Uebertragung zu erhalten.

Die Hornhäute der III. Uebertragung erwiesen sich bei Prüfung voller Spirochäten; ich hatte da eine wirkliche Hornhaut-Spirochätenreinkultur.

Die Hornhautverletzungen bei Kaninchen III. Uebertragung waren imponent und wirklich schön, wie alle, die die Tiere auf dem hygienischen Kongreß zu Mailand (Ende September bis Anfang Oktober 1906) gesehen haben, bestätigen konnten. Auch bei der IV. Uebertragung waren die Verletzungen noch sehr klar.

Es kann also darüber kein Zweifel bestehen, daß man es hier mit einem wirklichen Laboratoriums-Hornhautvirus zu tun hat.

Nach dem Innest wird beständig eine lange Inkubationsdauer beobachtet, was mich immer mehr zu der Ueberzeugung drängen muß, daß, wie Hoffmann bereits auf der Versammlung deutscher Mikrobiologen hervorgehoben hat (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. Originalber. über die Tagung der freien Vereinig. f. Mikrobiol. p. 111), meine Befunde ganz und gar anders sind, als die von Siegel erhaltenen.

Schließlich habe ich dann, wie ich nächstens dartun werde, mit der Hornhaut IV. Uebertragung auf peritonealem Wege einen Makake infiziert.

Untersuchungen über die Wirkung des Formaldehyds auf die Entwickelung des Tuberkelbacillus und des Staphylococcus pyogenes aureus[1]).

[Pathologisch-anatomisches Institut der Königl. Universität in Bologna (Direktor: Prof. G. Martinotti).]

Von Prof. **G. Martinotti.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Sehr geteilt sind die Ansichten der kompetentesten Autoren über die Wirkung, die das Formaldehyd auf die Tuberkelbacillen ausübt. Während Flügge[2]) der festen Meinung ist, daß es die Tuberkelbacillen sicher tötet, wenn es nur in enge Berührung mit ihnen kommen kann, behauptet Behring[3]), daß man ganz leicht zeigen könne, wie die von Flügge vorgeschlagene Desinfektionsmethode mittels Formaldehyd vollkommen versage, wenn es sich um die Tötung von Tuberkelbacillen handele. Auch die Resultate der Untersuchungen, die zur Lösung obiger Frage angestellt sind, zeigen keine größere Uebereinstimmung.

Spengler[4]) veröffentlichte vor nicht langer Zeit eine interessante Arbeit über das Verhalten des Tuberkelbacillus und anderer Bakterien des Sputums Formalindämpfen gegenüber.

Der Meinung dieses Autors nach leistete der Tuberkelbacillus diesen Dämpfen gegenüber größeren Widerstand als die anderen Bakterien; es wäre daher nicht nur möglich, sondern auch leicht, den Tuberkelbacillus von den anderen durch Einwirkenlassen von Formalindämpfen auf die Sputa zu isolieren.

Die von ihm gerühmte Methode besteht in folgendem: Man bringt die Sputa in eine Petrische Doppelschale von 100 ccm Inhalt, fügt 3—5 Tropfen Formalin hinzu und läßt das Ganze 1—3 Stunden bei einer Temperatur von 20—25° stehen.

Ich übergehe hier die minder wichtigen technischen Einzelheiten.

Das wesentliche Ergebnis ist, daß die Formalindämpfe alle Bakterien des Sputums (einschließlich des Staphylococcus pyogenes aureus) mit Ausnahme der Tuberkelbacillen töten; letztere gehen nicht zu Grunde, werden aber in ihrer Vitalität etwas geschwächt[5]), und zwar um so mehr, je höher die Temperatur ist, welcher die Sputa ausgesetzt werden[6]); denn die Erhöhung der Temperatur steigert bekanntlich die desinfizierende Kraft des Formalins[7]).

---

1) Der Königl. Akademie der Wissenschaften zu Bologna in der Sitzung am 20. Mai 1906 unter Demonstration von Kulturen vorgelegt.

2) Flügge, Entgegnung auf die Arbeit von C. Spengler: „Ueber Tuberkelbacillenzüchtung und Formaldehyddesinfektion". (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Leipzig. Bd. XLII. 1903. p. 115—117.)

3) Tuberkuloseentstehung, Tuberkulosebekämpfung und Säuglingsernährung. (Beitr. z. exper. Ther. Berlin 1904. Heft 8. Anm. auf p. 26.)

4) Spengler, C., Tuberkelbacillenzüchtung aus Bakteriengemischen und Formaldehyddesinfektion. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh. Bd. XLII. 1903. p. 90—114.)

5) Spengler, l. c. p. 95.

6) Spengler, l. c. p. 98.

7) Spengler, l. c. p. 104.

Die Abnahme der Vitalität sollte sich hauptsächlich darin zeigen, daß sich die in dieser Weise behandelten Tuberkelbacillen [1]) bei ihrer nachherigen Aussaat auf die gewöhnlichen Kulturmedien dort langsamer entwickelten. Dieses Resultat hat, wie jedermann sieht, eine große Bedeutung, namentlich für die bakteriologische Technik.

Mit 3—5 Tropfen Formalin auf eine Petrische Doppelschale erhält man eine teilweise Sterilisation des Sputums (wenn dieses nicht in allzu großer Menge oder in zu dünnen Schichten zur Verwendung kommt) der Art, daß von allen in ihm enthaltenen Bakterien nur die Tuberkelbacillen überleben [2]). Die Isolierung dieser Bacillen, die immer große Schwierigkeiten bereitete, namentlich wenn es sich um Sputa handelte, wird nun eine der einfachsten Aufgaben des Bakteriologen [3]). Die einzige Bedingung ist, daß die Wirkung des Formalins sich nicht in zu energischer Weise vollzieht; dies geschieht aber, entweder wenn das Sputum in zu dünner Schicht ausgebreitet ist oder die Temperaturhöhe der des menschlichen Körpers nahe kommt [4]); in diesem Falle würde die Vitalität der Tuberkelbacillen schwer geschädigt [5]) und dadurch ihre weitere Entwickelung mehr oder weniger in Frage gestellt werden.

Wie schon Steinitz [6]) im Flüggeschen Laboratorium gezeigt hatte, muß das Sputum feucht sein. Die desinfizierende Wirkung des Formaldehyds erklärt man sich in der Weise, daß es in den Körper der feuchten Bakterien eindringt, dort eine wässerige Lösung bildet und so die Keime tötet [7]).

Von größerer Wichtigkeit scheinen die Resultate zu sein, zu denen Spengler in hygienisch-praktischer Beziehung gekommen ist, denn bekanntlich ist das Formalin in ausgedehntem Maße zur Desinfektion der Umgebung der Phthisiker empfohlen und angewandt worden.

Flügge [8]) ließ der Spenglerschen Arbeit in derselben Zeitschrift eine Kritik folgen, in welcher er behauptet, die Resultate Spenglers erklärten sich dadurch, daß er das Formaldehyd auf Sputa von 2—2½ mm Dicke einwirken ließe. Jetzt hat er selbst schon die Leistungsfähigkeit des Formalins unter diesen Bedingungen erklärt.

„In der Ausübung der Desinfektion sind es aber nicht die dicken, feuchten oder trockenen Sputa, welche einem Schwierigkeiten bereiten, sondern gerade die feinsten, unsichtbaren und überallhin verstreuten Teilchen des Auswurfes; auf diese aber wirkt das Formalin in sicherer Weise, besser als irgend eine andere Desinfektionsmethode" [9]).

Bei einer so entschieden ausgesprochenen Behauptung und bei einer so kompetenten Autorität, wie es Flügge ist, haben sich natürlich Zweifel über den Wert der von Spengler erhaltenen Resultate erhoben, um so mehr, als zahlreiche frühere Untersuchungen anderer Autoren einen zu der Ueberzeugung gebracht hatten, daß das Formalin in Wahrheit eine der wirksamsten Substanzen wäre, um in gleicher Weise wie die anderen pathogenen Keime auch die Tuberkelbacillen zu vernichten.

---

1) Spengler, l. c. p. 95—96.
2) Spengler, l. c. p. 98.
3) Spengler, l. c. p. 100.
4) Spengler, l. c. p. 98.
5) Spengler, l. c. p. 105.
6) Steinitz, Franz, Die Beseitigung und Desinfektion phthisischen Sputums. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVIII. 1901. p. 141—142.)
7) Spengler, l. c. p. 114.
8) Flügge, l. c. p. 115.
9) Flügge, l. c. p. 116.

Bei Anwendung des Formaldehyds in verschiedener Weise waren die Untersucher fast übereinstimmend zu dem Schlusse gekommen, daß die Tuberkelbacillen des Sputums in einem zwischen 12 und 24 Stunden schwankenden Zeitraume sicher getötet werden [1]. Es wäre somit die Desinfektion der von Phthisikern bewohnten Räume mittels Formalin jeder anderen Methode vorzuziehen [2].

Die sichere Ueberzeugung, daß das Formalin eine energische vernichtende Wirkung auf die Tuberkelbacillen ausübe, hatte die Aerzte zu dem Versuche veranlaßt, es in der Therapie der Phthisis zu verwenden, und zwar besonders in Form von Inhalationen und manchmal auch von intravenösen Injektionen (jedoch mit wenig ermutigenden Resultaten).

Dann wurde das Formaldehyd gegen die Tuberkulose in Verbindung mit anderen Substanzen angewandt, z. B. mit Kasein (Glutol), mit Milchzucker (Sterisol), mit Kreosot (Pneumin), mit Guajakol (Pulmoform), mit Jodoform, Chloralhydrat und Terpentin (Igazol) etc. [3].

Aber der innerlichen Anwendung des Formalins und seiner Verbindungen in der Phthisiotherapie steht ein schweres, bis jetzt noch nicht überwundenes Hindernis im Wege, nämlich die reizende Wirkung, die es auf die Gewebe ausübt [4].

Schließlich erlangte das Formalin eine sehr große Bedeutung im Kampfe gegen die Tuberkulose, als Behring in der Annahme, die tuberkulöse Infektion sei beim Menschen hauptsächlich — wenn nicht ausschließlich — durch den Genuß tuberkelbacillenhaltiger Milch bedingt [5], vorschlug, der Milch Formalin im Verhältnis von 1:40000 hinzuzufügen; hierdurch sollte nämlich die Entwickelung der Tuberkelbacillen zwar gehemmt werden, aber nicht, wie dies gewöhnlich durch die Sterilisation mittels Hitze zu geschehen pflegt, die in der Milch enthaltenen Antikörper zerstört werden [6].

Da die Sache sehr wichtig ist, so begreift man leicht, daß die Forscher sich rasch und eifrig mit der Nachprüfung der Spenglerschen Behauptungen befaßten.

Einer der ersten war Römer [7]. Er brachte Tuberkelbacillenkulturen in eine Kammer, in welcher er (entsprechend den verschiedenen Desinfektionsmethoden) Formalindämpfe sich entwickeln ließ, und fand hierbei, daß die viele Stunden lang der Formalinwirkung ausgesetzten Bacillen bei ihrer Verimpfung auf Meerschweinchen den Tod dieser Tiere ebenso rasch als die entsprechenden Kontrollkulturen herbeiführten; er

1) Ottolenghi, D., I bacteri patogeni in rapporto ai disinfettanti. (Torino 1899. p. 103.)
Hess, O., Der Formaldehyd etc. Marburg 1901. 2. Aufl. Diese Arbeit empfehle ich dem Leser ganz besonders wegen der darin enthaltenen Zusammenstellung der Literatur vor 1901.

2) Kobert, Bericht über den Kongreß zur Bekämpfung der Tuberkulose als Volkskrankheit (Mai 1899).

3) Siehe Ott, A., Die chemische Pathologie der Tuberkulose. Berlin 1903. p. 473 ff.

4) Zamboni, Die Wirkung des Formaldehyds auf den tierischen Organismus. (Archivio di Farmacologia sperimentale etc. Anno I. Vol. I. 1902. fasc. 9.)

5) Behring, „Die Säuglingsmilch ist die Hauptquelle für die Schwindsuchtsentstehung“. Tuberkulosebekämpfung. (Vortrag, gehalten auf der 75. Versammlung D. Naturf. u. Aerzte in Kassel. September 1903. Marburg 1903. p. 25.)

6) Behring, Tuberkuloseentstehung, Tuberkulosebekämpfung und Säuglingsernährung. (Beitr. z. exper. Ther. Berlin 1904. Heft 8.) — Behring, Tuberkulosetilgung, Milchkonservierung und Kälberaufzucht. [Vortrag.] Bonn 1904.

7) Römer, Zur Frage der Formaldehyddesinfektion. (Behrings Beitr. z. exper. Ther. Berlin. 1903. Heft 6.)

schloß hieraus, daß die Desinfektion mit der oben erwähnten Substanz nicht den geringsten Einfluß auf die Tuberkelbacillen ausgeübt hatte.

In demselben Institut für Hygiene und experimentelle Therapie in Marburg beobachtete Werner[1]), daß bei Behandlung der Sputa nach der Spenglerschen Methode in dieser eine Vermehrung der Zahl der Tuberkelbacillen nicht stattfindet.

Bei weiteren Tierversuchen über die Vitalität der Tuberkelbacillen der so behandelten Sputa fand Werner folgendes: ließ er das Formalin bis zu dem Grade einwirken, daß auch die anderen Bacillen des Auswurfes getötet wurden, so waren die in ihnen enthaltenen Tuberkelbacillen bei ihrer Verimpfung auf Tiere (Meerschweinchen) nicht mehr im stande, eine Infektion bei ihnen zu verursachen; sie waren also gestorben oder hatten ihre Virulenz verloren.

Nach Werner ist die Resistenz der Tuberkelbacillen dem Formaldehyd gegenüber nicht viel größer als die der anderen Bacillen des Sputums; im feuchten Sputum können die Tuberkelbacillen mittels Formalin ohne große Schwierigkeiten getötet werden[2]).

Auch Koeniger[3]) hatte im hygienischen Institut in Gießen beobachtet, daß, wenn es gelingt, mittels Formaldehyd die im Sputum neben den Tuberkelbacillen vorkommenden Bakterien in ihrer Entwickelung zu hemmen, auch die Vitalität der Tuberkelbacillen geschädigt und ihre Entwickelung mehr oder weniger in Frage gestellt wird.

Zu ähnlichen Ergebnissen kam Jacqué[4]) im Institut für Serumtherapie in Brüssel. Bei gewissenhafter Befolgung der Spenglerschen Vorschriften fand er, daß, wenn die fremden Bakterien getötet, auch die Tuberkelbacillen nicht mehr am Leben waren.

Auch Dworetzky[5]) gelangte zu dem Schlusse, „daß man die Bakterien des Auswurfes nicht töten kann, ohne gleichzeitig die Vitalität der Tuberkelbacillen zu schädigen, welche der Wirkung des Formaldehyds gegenüber durchaus nicht widerstandsfähiger als die anderen Bakterien sind".

Aehnlich lauten auch die Schlüsse, zu denen Bronstein[6]) bei seinen Untersuchungen kommt: bei der Tötung der anderen Bakterien des Sputums werden auch die Tuberkelbacillen getötet.

Andererseits fand Piatkowsky[7]), daß die sogenannten säurefesten Bacillen (also auch der Tuberkelbacillus) im Vergleiche zu den anderen Bakterien der Formalinwirkung gegenüber weniger empfindlich waren und später getötet wurden; blieben sie am Leben, so gewannen sie bei aufeinanderfolgenden Ueberimpfungen ihre volle frühere Vitalität wieder und wurden niemals in ihren färberischen und sonstigen Eigenschaften verändert. Zu diesem Resultate gelangte er durch eine Modifikation der Spenglerschen Methode, indem er eine halbe Stunde lang nicht mehr

---

1) Werner, G., Zur Kritik der Formaldehyddesinfektion. (Arch. f. Hygiene. Bd. L. 1904. p. 305.)
2) Werner, G., l. c. p. 313—314.
3) Koeniger, zitiert von Werner, l. c. p. 314.
4) Jacqué, A propos des procédés de Hesse et Spengler pour la culture des bacilles de la tuberculose. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. p. 461.)
5) Dworetzky, Erfahrungen mit der Spenglerschen Formalinmethode zur Reinzüchtung von Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. p. 626.)
6) Bronstein, zitiert von Dworetzky in der obigen Arbeit, p. 627.
7) Piatkowsky, Ueber eine neue Eigenschaft der Tuberkel- und anderer säurefester Bacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 24. p. 878.)

die Formalindämpfe, sondern das Formalin selbst (im Verhältnisse von 2–3 Tropfen Formalin auf 10 ccm Bouillon oder Wasser) in den Flüssigkeiten, welche die Bakterienmischung enthielten, wirken ließ und dann aus der Flüssigkeit auf geeignete Nährböden überimpfte. Die Methode würde sich also zur Isolierung der säurefesten von den anderen Bacillen eignen. So haben auch Weber und Taute[1]) bei ihren Versuchen, die Tuberkerkelbacillen von den anderen säurefesten zu isolieren, die Spenglersche Methode angewandt und behaupten, hiermit sehr gute Resultate erhalten zu haben.

Wie kann man sich nun diese Ungleichheit der Ergebnisse erklären? Reichenbach[2]), der erst kürzlich die Frage der Formaldehyddesinfektion studiert hat, erklärt bei einer Kritik der Spenglerschen Resultate, die Methode der Kulturen sei nicht das empfindlichste Reagens zur Beurteilung der Vitalität der Tuberkelbacillen (?); man müsse vielmehr beweisen, daß ein Sputum, welches nach Behandlung mit Formaldehyd nicht mehr im stande sei, ein Meerschweinchen zu infizieren, auch noch Tuberkelbacillen enthalte, die fähig seien, sich in einer Kultur zu entwickeln.

Mit Bezug auf die oben zitierten Wernerschen Untersuchungen, nach denen das mit Formalin behandelte Sputum keine entwickelungsfähigen Bacillen mehr enthielte, wenn es die Tiere nicht mehr zu infizieren vermochte, glaubt er, die von Römer erhaltenen Resultate damit zu erklären, daß das Formalin nur sehr schwer in die engen Kulturröhrchen eindringen könne.

Spengler[3]) sagt in seiner Antwort auf die Reichenbachsche Kritik, daß, wenn man die nach seiner Methode mit Formalin behandelten tuberkulösen Sputa in Kulturröhrchen bringt, die ohne Gummikappe nur mit einem Wattepfropf verschlossen sind, man dann sieht, wie die Tuberkelbacillen üppig gedeihen, sobald das Formalin sich aus den Röhrchen verflüchtigt hat; letzteres läßt sich mittels chemischer Reaktionen nachweisen.

Verschließt man dagegen durch Gummikappen die Röhrchen, welche die vorher in derselben Weise behandelten tuberkulösen Sputa enthalten, so sieht man, daß die im Sputum enthaltenen Tuberkelbacillen sterben.

Er behauptet jedoch, daß, wenn man 10 Tropfen Formalin (= 0,5 g) in eine Petrische Doppelschale von 100 ccm Kapazität bringt, welche das tuberkulöse Sputum enthält, und sie dann $^1/_2$ Stunde lang einer Temperatur von ungefähr 20° aussetzt, daß dann alle im Sputum enthaltenen Bakterien, mit Ausnahme der Tuberkelbacillen, sterben, welch letztere auch dann noch am Leben bleiben, wenn sie 48 Stunden hindurch unter diesen Bedingungen gehalten werden.

Wie man sieht, sind über einen Punkt, der von sehr großer Bedeutung ist, die Meinungen noch sehr getrennt. Nach meiner Ansicht kann man zur Lösung dieser Frage beitragen, wenn man einen Weg verfolgt, der von früheren Beobachtern nicht eigens eingeschlagen ist, d. h. wenn man untersucht, ob und wie sich die Tuberkelbacillen in Gegenwart von Formalindämpfen entwickeln.

---

1) Weber und Taute, Zur Frage der Umwandlung der Tuberkelbacillen im Kaltblüterorganismus. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 28. p. 1019.)

2) Reichenbach, Die Leistungen der Formaldehyddesinfektion. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh. Bd. L. 1905. p. 451.)

3) Spengler, Zur Formaldehydabtötung und Züchtung der Tuberkel- und anderer säurefester Bacillen. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LI. 1905. p. 335.)

Die von mir angewandte Methode war sehr einfach; auf den Wattepfropf, der das Röhrchen verschloß, das den Glycerinagar mit den darauf gesäten Tuberkelbacillen enthielt, wurden mehrere Tropfen Formalin in steigender Dose gegossen; der Wattepfropf wurde dann tiefer hinein gestoßen und über ihn ein Gummipfropf gesteckt; das Ganze wurde mit Paraffin fest verschlossen.

Die so präparierten Röhrchen wurden in einen Brutschrank von 37—38° Temperatur gebracht. Infolge der Hitze breiteten sich die Formoldämpfe in den Röhrchen aus und wirkten auf die Oberfläche des Agars ein, wo sich die ausgesäten Tuberkelbacillen befanden. Die Kapazität der Versuchsröhrchen betrug 25 ccm. In jedes Röhrchen waren 5 ccm Glycerinagar, genau abgemessen, hineingegossen worden; den Teil, der von dem Gummipfropfen eingenommen wurde, konnte man auf 3 bis 4 ccm schätzen; es blieben demnach in dem Röhrchen noch 16—17 ccm frei, die von dem mit Formalin getränkten Wattetampon eingenommen wurden.

Endlich möchte ich noch bemerken, daß, mit dem Tropfenzähler abgemessen, 23 Tropfen 1 g Formalin entsprachen, und daß dieses 38,5 Proz. Formaldehyd enthielt.

In einer ersten Versuchsreihe wurden 10 Röhrchen mit Tuberkelbacillen geimpft und ihnen progressiv 1—10 Tropfen Formalin hinzugefügt, das mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers verdünnt war. 4 andere Röhrchen wurden auch mit Tuberkelbacillen geimpft, erhielten aber keinen Formalinzusatz; sie wurden zur Kontrolle verwandt.

Die Entwickelung der Tuberkelbacillen begann in allen 14 Röhrchen gleichzeitig, ohne daß ein nennenswerter Unterschied zwischen den Kontroll- und den Formalinröhrchen bestand; auch bei letzteren konnte man keinen Unterschied zwischen denen konstatieren, welche eine größere, und denen, welche eine kleinere Menge Formalin enthielten.

Dieselbe vollkommene Uebereinstimmung bemerkte man auch in dem Wachstum der Kulturen; sie wuchsen üppig, und zwar alle mit gleicher Geschwindigkeit, so daß man nicht die kleinste Differenz zwischen ihnen feststellen konnte.

Ich versuchte alsdann, die Formalinmenge zu erhöhen. In einer zweiten Reihe von Versuchen wurden 38 Glycerinagarröhrchen mit Tuberkulosebacillen geimpft; von diesen wurden 12 zur Kontrolle genommen und bei den anderen 26 auf den Wattetampon unverdünntes Formalin in steigenden Dosen, von 5—30 Tropfen, gegossen. Der Wattetampon wurde dann tiefer hineingeschoben, ein Gummipfropfen auf das Röhrchen gesteckt, das Ganze mit Paraffin verschlossen und in den Thermostaten gestellt.

Die Untersuchung der Röhrchen, die 12 Tage nach der Inokulation vorgenommen wurde, zeigte, daß in allen Kontrollröhrchen und, mit Ausnahme von 5, auch in den Formalinröhrchen die Entwickelung begonnen hatte. Außerdem bemerkte man, daß, während in den ersteren die Entwickelung gleichmäßig und üppig vor sich gegangen, sie in den anderen entweder kaum angedeutet oder nur sehr dürftig ausgefallen war. Aber merkwürdigerweise standen diese Erscheinungen nicht im Verhältnisse zu der in die Röhrchen gebrachten Formalinmenge; denn die Kulturen hatten sich in den Röhrchen, die 24, 25 und 26 Tropfen Formalin enthielten, ebensowenig entwickelt, wie in denen, die nur 5 und 7 Tropfen enthielten.

Hieraus kann man vernünftigerweise schließen, daß die Formalindämpfe auch in großer Menge weder die Keimung noch das spätere Wachstum der Tuberkelbacillen in erheblicher Weise hemmen. Werden die Formalinmengen übermäßig groß, so findet zwar immer noch eine Entwickelung statt, aber doch in sehr kümmerlicher Weise.

Es könnte einem jedoch hier ein Zweifel auftauchen. Von vielen Beobachtern ist nämlich schon das geringe Penetrationsvermögen der Formalindämpfe bemerkt worden.

So ließ Gehrke[1]) im hygienischen Institut in Greifswald (Direktor: Löffler) mittels der Lampe „Aeskulap" von der Firma Schering in einer geschlossenen Kammer sich Formalindämpfe entwickeln und brachte in diese Kammer Diphtheriekulturen auf Agar in Röhrchen, die teils aufrecht standen, teils umgekehrt waren, und von denen er einige mit Watte verschlossen, andere dagegen offen gelassen hatte. Hierbei hatte er festgestellt, daß das Formalin nicht bis zum Boden der Röhrchen dringt, oder wenigstens nicht in solcher Menge dahin gelangt, um die am Boden der Röhrchen befindlichen Bakterien zu töten.

Kontrollversuche mit Kulturen in Petrischen Schalen, die offen in die Kammer gebracht worden waren, zeigten, daß die Formalindämpfe im stande waren, die Bakterienkolonieen zu töten; es genügte jedoch, die Schalen mit einigen Kartenblättern oder mit einem etwas großen Briefe zu bedecken, um das Formalin unwirksam zu machen.

Die Kapazität der Kammer betrug in diesem Falle 53 cm, es wurden nur 1 Apparat „Aeskulap" angewandt und 102 Formalinpastillen, d. h. 2 g auf 1 cm verbraucht. Die Temperatur war 7—9° C.

Um den Wert der oben erwähnten Römerschen Resultate herabzusetzen, berief sich Reichenbach[2]) auf die obigen Beobachtungen Gehrkes. Indessen, wenn diese auch wirklich zeigen, daß das Formalin nur ein schwaches Penetrationsvermögen besitzt, so können sie doch nicht die Bedeutung meiner Experimente verringern, weil die Versuchsbedingungen zu verschieden sind.

In der Tat ist es eine ganz andere Sache, ob sich die Formalindämpfe unter einem niederen Drucke in einer Kammer bei 7—9° C ausdehnen, oder ob eine beträchtliche Menge Formalin in ein hermetisch verschlossenes Röhrchen gebracht und dieses dann bei einer Temperatur von 37° gehalten wird.

Auch darf man nicht außer Acht lassen, daß die desinfizierende Wirkung des Formalins je nach der Temperatur großen Schwankungen unterworfen ist[3]); so kann man nach Werner[4]) bei sommerlichen Temperaturen mittels der gewöhnlichen Desinfektionsmethoden mit Formalin leicht Tuberkelbacillen, Staphylokokken und sogar Milzbrandbacillensporen töten, während man im Winter, wenn die Temperatur unter 10° C fällt, solche Resultate selbst mit viel größeren Dosen Formalin nur schwer erhält.

Um die Zweifel, die sich infolge der Gehrkeschen Experimente erhoben hatten, zu beseitigen, stellte ich folgenden Versuch an. Ich

1) Gehrke, W., Versuche über die desinfektorische Wirkung der mit dem Scheringschen Apparate „Aeskulap" erzeugten Formalindämpfe. (Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 15. p. 242.)

2) Reichenbach, Die Leistungen der Formaldehyddesinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. L. 1905. p. 455.)

3) Meyer und Wolpert, Ueber den Einfluß der Lufttemperatur auf die Desinfektionswirkung des Formaldehyds. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIII. 1902. p. 221.)

4) Werner, siehe die zitierte Arbeit.

nahm 3 Röhrchen, welche den für die Kulturen verwandten gleich waren, und goß in eines eine Lösung von Goldchlorid mit Zusatz von Natriumkarbonat, in das zweite eine Lösung von Silbernitrat mit Ammoniak und in das dritte Nesslersches Reagens für Ammoniak. Hierauf wurden die Röhrchen mit je einem Wattepfropfen verschlossen, auf den jedesmal 5—10 Tropfen Formalin gegossen waren, und wurden dann eine Nacht hindurch in den Thermostaten bei 37° gelassen. Am folgenden Morgen zeigten alle drei Reagentien die in ihnen durch das Formaldehyd bedingten Veränderungen an, während die Kontrollröhrchen, die auch die genannten Reagentien enthielten und unter denselben Bedingungen gehalten waren, aber keinen Formalinzusatz bekommen hatten, unverändert geblieben waren.

Hieraus sieht man deutlich, daß die Formalindämpfe unter diesen Umständen sich bis auf den Boden des Röhrchens hinabsenken, auch wenn es nicht hermetisch, sondern nur mit einem einfachen Wattepfropf verschlossen ist.

Vor allen Dingen könnte man hier nun folgendes einwenden: Nimmt man an, daß der Tuberkelbacillus sich langsam entwickelt, so könnte das Formalin schon verdampft sein, noch bevor die Entwickelung der Bacillen begonnen hätte.

Um auch diese Schwierigkeit zu beseitigen, habe ich folgenden Versuch angestellt, der mir absolut überzeugend zu sein scheint.

In 14 Röhrchen der ersten Reihe wurden 23 Tage nach ihrer Impfung und der Formalinzugabe, als sich in allen die Kulturen üppig entwickelt hatten, Streifen von Löschpapier eingeführt, das mit Silbernitrat getränkt worden war.

In den 4 Röhrchen, die kein Formalin enthielten, veränderten sich die Papierstreifen nicht im geringsten, in den anderen 10 dagegen, mit Ausnahme eines einzigen, trat die Formaldehydreaktion mehr oder weniger deutlich auf.

Da Spengler[1]) behauptet hatte, daß die Tuberkelbacillen gegen Formalin widerstandsfähiger als andere Bakterien sind — er hatte besonders auf den Staphylococcus pyogenes aureus hingewiesen — so wollte ich das Verhalten dieses Mikroorganismus Formalindämpfen gegenüber untersuchen. Ich befolgte hierbei die für die Tuberkelbacillen angewandte Methode, nur wurden die Kulturen auf einfachem schrägen Agar angelegt und die Impfung in der Weise vorgenommen, daß man mit der Platinöse über die Oberfläche strich und eine Linie von oben nach unten zeichnete.

Auf den Wattepfropfen wurden 1—30 Tropfen unverdünnten Formalins gegossen; dann wurden die Röhrchen aufrecht in den Brutschrank bei 38° gestellt.

Darauf zeigte sich bei allen eine merkwürdige Erscheinung; nach 24 Stunden waren die Kulturen nämlich in dem oberen Teile steril, während sie im unteren Teile in einer Ausdehnung von ungefähr 1 cm üppig wuchsen. In allen Kulturen beobachtete man aber das Fehlen des gelblichen Pigmentes, welches der Staphylococcus unter gewöhnlichen Umständen produziert.

In dem Argwohn, dieses sonderbare Resultat sei dem Umstande zuzuschreiben, daß die Formalindämpfe den Boden des Röhrchens nicht

1) Spengler, l. c.

erreicht hätten (obgeich der oben erwähnte Versuch das Gegenteil bewiesen hatte) oder nur in unzureichender Menge dorthin vorgedrungen wären, nahm ich Impfungen vor, die sich nur auf den oberen Teil des Agars beschränkten, fügte 1—7 Tropfen Formalin hinzu und stellte die Röhrchen aufrecht in den Thermostaten. Die Röhrchen blieben steril, während sich in den Kontrollröhrchen, die in derselben Weise geimpft worden waren, aber keinen Formalinzusatz erhalten hatten, der Staphylococcus üppig entwickelte.

Stellte ich den Versuch in verschiedener Weise an, d. h. impfte ich die Agaroberfläche in ihrer ganzen Ausdehnung und stellte nach Hinzugabe von Formalin die Röhrchen in dem Brutschranke in fast horizontaler Lage auf, und zwar derart, daß die Agaroberfläche nach unten sah, so fand wieder die üppigste Entwickelung in den unteren Teilen der Röhrchen statt, und zwar in einer etwas größeren Ausdehnung, als wenn man sie aufrecht stehen ließ.

Eine Erklärung für diese Erscheinung zu geben, ist meiner Meinung nach nicht leicht. Man könnte indessen die Hypothese aufstellen, daß die unteren Agarpartieen mehr mit Wasser getränkt sind als die oberen (was mir auch wahrscheinlich erscheint), und daß diese Feuchtigkeit des Substrates die Wirkung des Formalins vielleicht weniger wirksam macht.

— — —

Aus allen diesen Experimenten kann man, meiner Meinung nach, mit gutem Rechte schließen, daß die Tuberkelbacillen der Wirkung der Formalindämpfe einen gewissen Widerstand entgegensetzen, der sicherlich viel größer als der des Staphylococcus aureus ist; nur könnte man höchstens noch darüber im unklaren sein, ob diese Differenz mehr oder weniger von den Varietäten der untersuchten Mikroorganismen abhängt.

Man hätte also noch zu untersuchen, ob die Tuberkelbacillen, die sich unter diesen Bedingungen entwickelt haben, in ihrer Virulenz eine Veränderung erleiden. Der Umstand, daß die Staphylokokken bei sonst guter Entwickelung in Gegenwart von Formalindämpfen doch ihre chromogenen Eigenschaften verlieren, würde schon zur Genüge beweisen, daß das Formaldehyd zwar nicht die Entwickelung der Bakterien ganz aufhalten, wohl aber einige ihrer chemischen Funktionen aufheben kann. Letzteres sieht man an der hemmenden Wirkung, welche das Formalin auf die Verdauungsfermente und die bakteriellen Toxine und Antitoxine ausübt[1]).

Um diese Frage direkt zu beantworten, impfte ich eine gewisse Anzahl von Meerschweinchen, teils mit Tuberkelbacillen, die in Gegenwart von Formalindämpfen gewachsen waren, teils mit solchen, die von demselben Stamme herrührten und gleichzeitig gewachsen waren, aber nicht unter der Formalinwirkung gestanden hatten.

Diese Versuche, die erst seit kurzem begonnen waren, haben die erwartete Antwort noch nicht geben können.

Was den Wert anbetrifft, der meinen Beobachtungsresultaten zuzuschreiben ist, so muß man ihn in gerechter Weise abwägen.

Bei meinen Versuchen wuchsen die Tuberkelbacillen auf einem reichlichen Nährboden, welcher trotz seiner künstlichen Herstellung als sehr

1) Hess, siehe die zitierte Arbeit. Anm. 2. p. 18. — Rehns, Compt. rend. de la Soc. de Biologie. 1904. p. 64.

geeignet anerkannt ist, um ihnen die zum Leben notwendigen Nahrungsmittel in Hülle und Fülle zu liefern; ebenso waren die Bedingungen der Wärme, Feuchtigkeit u. s. w. ihren Bedürfnissen ganz und gar angemessen.

Andererseits muß man bedenken, daß die Formalindämpfe auf sie in einer geradezu enormen Menge, unter einem gewissen Drucke und bei einer Temperatur einwirkten, welche bei sehr langer Dauer die desinfizierende Wirkung des Formalins sehr befördert.

Aber wichtiger scheint mir noch der Umstand zu sein, daß die Formalindämpfe auf die Bacillen in der Periode ihrer Vermehrung einwirkten, wo, wie wir wissen, die Keime einen höheren Grad von Hinfälligkeit haben (gerade hierauf fußen gewisse Sterilisationsmethoden) und so leichter schädigenden Einflüssen unterliegen.

In den Sputis dagegen, namentlich in denen, welche staubförmig verteilt sind, finden die Tuberkelbacillen sicherlich nicht die Nahrungsmengen, die günstigen Bedingungen der Feuchtigkeit, der Wärme etc., die ihnen in den künstlichen Kulturmedien zur Verfügung stehen.

Ich möchte aber noch folgendes bemerken: es ist schwer, in einem einigermaßen geräumigen Raume eine solche Menge von Formaldehyd zu entwickeln, die sich mit der in einem Probierröhrchen angesammelten vergleichen läßt, und außerdem kommt das Formaldehyd nicht leicht in so innige Berührung mit dem Bakterienleibe, wie bei meinen Versuchen (dies kann man wohl annehmen); ferner wird die Desinfektion meistenteils bei der gewöhnlichen Temperatur vorgenommen, welche sich an den heißesten Sommertagen nur ausnahmsweise der Temperatur von 38° nähert; wie wir aber oben gesagt haben, ist das Formalin um so wirksamer, je höher die Temperatur ist.

Andererseits soll damit aber nicht gesagt sein, daß die im Sputum enthaltenen Bacillen den angreifenden Agentien ohne jedes Verteidigungsmittel gegenüberstehen und sich in Bedingungen befinden, die für ihre Existenz sehr ungünstig sind.

Wir wissen noch zu wenig über die Art und Weise, in der sich das Leben der Tuberkelbacillen außerhalb des Tierkörpers abspielt. Die Mannigfaltigkeit der Formen, welche in ihrer Organisation noch viel kompliziertere Wesen annehmen, wie z. B. gewisse Tiere, wenn sie ihr parasitäres Leben mit anderen Zuständen vertauschen, legt einem die Vermutung nahe, daß der Tuberkelbacillus während seines saprophytischen Lebens Eigenschaften annehmen kann, die ihm gegen schädliche Agentien eine größere Widerstandsfähigkeit verleihen. Aber sieht man auch von diesen Betrachtungen ab [die übrigens nicht nur spekulativer Natur sind, wie die vielen Beobachtungen über den Polymorphismus des Tuberkelbacillus zeigen [1])] und hält man sich nur an die Tatsachen, so muß man bemerken, daß die Tuberkelbacillen in den Sputis, in denen sie enthalten sind, manchmal eine ihnen schädliche Umgebung, dann aber wieder auch Bedingungen finden, die nicht nur ihrer Erhaltung, sondern auch ihrer Weiterentwickelung günstig sind.

Die schädigenden Einflüsse scheinen größtenteils durch die Anwesenheit von Leukocyten bedingt zu sein, deren Kern beim Zerfall Nukleinsäuren entstehen läßt, welche eine bakterizide Wirkung haben sollen [2]).

---

1) Vergl. die Berichte über die Tuberkulose von Dürck (Ergebnisse Jg. II. p. 214), von Dürck und Oberndorfer (ibid. Jg. VI. p. 214) und von Pertik (ibid. Jg. VIII. Abt. II. p. 65).

2) Spengler, siehe die zitierte Arbeit in Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. 1903. p. 91 (und die anderen dort zitierten Autoren).

Der Wahrheit näher kommen würde wohl die Behauptung, daß bei der Zerlegung des Nukleoalbumins das Adenin[1]), ein Polymeres der Cyanwasserstoffsäure, auftritt, das toxische Eigenschaften besitzt[2]).

Ist das Sputum aber arm an Leukocyten und fehlt daher die Leukolyse mit ihren Folgen, so können Bedingungen entstehen, die nicht nur die Vitalität der Tuberkelbacillen erhalten, sondern sogar ihre Vermehrung befördern. Dies scheint manchmal in der Tat in Sputis vorzukommen, die unter günstigen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen gehalten werden; man braucht dann den Bacillen keine anderen Nährstoffe[3]) zu liefern, sondern es genügt ihnen der Schleim, in den sie eingehüllt sind; letzterer dient ihnen in diesen Fällen nicht nur zum Schutz und zur Verteidigung gegen äußere schädliche Agentien, sondern auch zur Nahrung[4]), so daß man ihn mit der rein schleimigen Hülle der Eier gewisser Amphibien vergleichen könnte, die nicht nur zu ihrem Schutze dient, sondern die erste Nahrung des nur sehr wenig entwickelten Embryo bildet[5]).

Alle diese Betrachtungen haben begreiflicherweise für die in feine Stäubchen zerteilten Sputa weniger Wert; denn gerade diesen gegenüber soll nach Flügges Aussage die nach seiner Methode ausgeübte Formalindesinfektion sehr wirksam sein.

Zieht man aber alle oben erwähnten Umstände in Betracht, so dürfen, glaube ich, die von mir hervorgehobenen Tatsachen nicht ganz und gar unberücksichtigt gelassen werden, wenn man in gerechter und billiger Weise ein Urteil über die Wirkung des Formalins auf die Vitalität der Tuberkelbacillen fällen will.

Ich möchte noch hinzufügen, daß ich nicht nur mit Tierexperimenten (wie ich oben gesagt habe) über die Virulenz der Tuberkelbacillen beschäftigt bin, die in Gegenwart von Formaldehyddämpfen sich entwickelt haben, sondern daß ich auch untersuche, ob die Bacillen schließlich ihre Vitalität einbüßen, wenn ich das Formaldehyd in beträchtlichen Dosen lange Zeit hindurch auf sie einwirken lasse. Diese Untersuchung habe ich in der Weise angestellt, daß ich die Bacillen auf neue Kulturmedien überimpfte oder das in den Röhrchen zurückgebliebene Formaldehyd mittels Ammoniak neutralisierte, um zu sehen, ob das Wachstum der Kulturen nach seiner Entfernung wieder beginnen würde, oder ob man mit ihnen nach Aussaat auf neue Substrate neue Ueberimpfungen vornehmen könnte.

Diese Untersuchungen, die noch immer im Flusse sind, führen anscheinend zu dem Ergebnisse, daß die Tuberkelbacillen, die lange in Berührung mit einer großen Menge Formaldehyd waren, nicht nur in ihrer begonnenen Entwickelung gehemmt, sondern sogar getötet werden.

Dies ist indessen nicht — ich wiederhole es — das endgültige Resultat meiner Untersuchungen, denn sie sind noch immer nicht abgeschlossen.

So kann ich für den Augenblick auch noch nicht die letzten Resultate anderer Versuche angeben, die feststellen sollen, ob überhaupt und bis zu welcher Dosis das den flüssigen Kulturmedien zugefügte Formalin sich mit der Entwickelung der Tuberkelbacillen verträgt.

---

1) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. X. Heft 3.
2) Kossel, Berl. klin. Wochenschr. 1889. No. 19.
3) Spengler, siehe die zitierte Arbeit. — Fusco, Beitrag zur Untersuchung des Tuberkelbacillus im Sputum. (La nuova Rivista clinica terapeutica. 1905. No. 6.)
4) Vergl. Ergebnisse der allgem. Pathol. etc. Jg. VIII. Abt. II. p. 86ff.
5) Vergl. Preyer, Spezielle Physiol. des Embryo. Leipzig 1885. p. 240.

Aus den bisher angestellten Experimenten scheint jedoch hervorzugehen, daß man verhältnismäßig große Mengen von Formalin den flüssigen Kulturmedien hinzufügen kann, ohne die Entwickelung der Tuberkelbacillen zu hemmen.

Ich behalte mir vor, genauere Einzelheiten über diesen Punkt nach Abschluß der Untersuchungen mitzuteilen, aus denen (falls die ersten Resultate bestätigt werden) die geringe Wirksamkeit des Formalins den Tuberkelbacillen gegenüber immer deutlicher hervorgeht.

Zur Topographie der bakteriziden Serumwirkung.

[Aus dem Institute für experimentelle Pathologie der k. k. Universität Innsbruck.]

Von Prof. Dr. **M. Loewit**, Innsbruck.

In einer vorausgehenden Untersuchungsreihe: „Experimentelle Studien zur intravasalen Bakteriolyse“ [1]), konnte der Nachweis geführt werden, daß bei Einhaltung gewisser Versuchsbedingungen die in die Blutbahn des Kaninchens eingeführten Milzbrandbacillen nach 20 bis 40 Minuten die Zeichen der Granulabildung als Ausdruck der Alexin-(Komplement-)wirkung ihrer Hauptmasse nach nicht zeigen, während die gleichzeitig aus gewissen inneren Organen (namentlich Lunge und Gehirn) untersuchten Bacillen diese Zeichen in sehr intensiver Weise und an der Ueberzahl derselben darbieten.

Ich hatte dieses Verhältnis dahin ausgedrückt: „daß die Bakteriolyse in den inneren Organen mehr oder weniger hochgradig vorhanden ist, auch wenn sie im strömenden Blute nur schwach nachweisbar ist, und daß die Bakteriolyse der in das zirkulierende Blut des Kaninchens (unter den gewählten Versuchsbedingungen) eingeführten Milzbrandbacillen der Hauptsache nach nicht im strömenden Blute erfolgt, sondern von den inneren Organen und zwar von diesen in verschieden starkem Grade besorgt wird, nachdem die Milzbrandbacillen aus dem strömenden Blute in die inneren Organe abgelagert wurden, was bekanntlich sehr rasch vor sich geht“ [2]).

Auf Grundlage dieser Beobachtungen wurde daher auch der Vermutung Ausdruck gegeben, daß „intravital gewisse Organe und daher auch gewisse in ihnen enthaltene Zellen an der Bakteriolyse der Milzbrandbacillen in hervorragenderem Grade als die Blutzellen beteiligt zu sein scheinen, und daher eine Abhängigkeit der Bakteriolyse im strömenden Blute von der bakteriolytischen Wirksamkeit gewisser innerer Organe“ als naheliegend anzunehmen ist [3]). Im Anschlusse an diese Vermutung drängt sich dann sofort die Frage auf, ob die bakterizide Serumwirkung nicht je nach der Lokalität der Blutentnahme gewisse Differenzen darbiete, die mit dem vom Blute zunächst durchflossenen Organen in näheren Zusammenhang gebracht werden können.

---

1) Sitzungsber. d. kaiserl. Akademie der Wissensch. in Wien. Mathem.-naturw. Klasse. Bd. CXIII. Abt. III. Oktober 1904.

2) l. c. p. 159.

3) l. c. p. 194.

Um dieser Vermutung näherzutreten, mußten die bakteriziden Wirkungen des vom gleichen Tiere durch sogenannte topische Blutentnahmen gewonnenen Serums untereinander verglichen und festgestellt werden, ob sich je nach dem vom Blute durchflossenem Gefäßbezirke ein Wechsel in der Größe dieser Serumwirkung, in Abhängigkeit von dem einen oder dem anderen Organe nachweisen ließe. In ähnlicher Weise wie die topische Blutuntersuchung für die Frage der Temperaturtopographie des Organismus [1]) und für die Frage der Abhängigkeit der Zuckerbildung und Zuckerverteilung im Organismus von der Funktion bestimmter Organe [2]) Verwendung gefunden hatte, so sollte auch die Serumbakterizidie topisch verfolgt und dadurch ermittelt werden, ob eine solche örtliche auf Organwirkung hinweisende Zu- oder Abnahme der bakteriziden Serumwirkung nachgewiesen werden könne.

Die zur Prüfung dieser Frage anzustellenden Beobachtungen mußten dementsprechend in der Weise eingerichtet werden, daß bei dem Versuchstiere aus verschiedenen an der Körperperipherie und im Körperinnern befindlichen arteriellen und venösen Gefäßbahnen kleine Blutentnahmen vorgenommen und die bakterizide Wirkung der entsprechenden Sera untereinander womöglich gegen verschiedene Mikrobenarten verglichen wurden.

Soviel mir bekannt ist, liegt in der Literatur nur eine hierher gehörige Angabe von J. H. Hamburger [3]) vor, laut welcher die bakterizide Wirkung des Serums der Vena jugularis gegen Milzbrand und Staphylococcus stets wesentlich höher als jene des Carotisserums beim Pferde angetroffen wurde, was von Hamburger auf den höheren Gehalt des venösen Serums an CO_2 und an diffussibelm Alkali bezogen wird. Das Blut anderer Gefäßbezirke wurde von Hamburger nicht geprüft, ich habe auch keinerlei andere Arbeiten auffinden können, welche die bakterizide Wirkung des Blutes verschiedener Gefäßprovinzen untereinander in Vergleichung ziehen.

Als Versuchstier wurde stets das Kaninchen verwendet, das ja auch zu den Versuchen über intravasale Bakteriolyse hauptsächlich in Anwendung gekommen war, und dessen Normalserum in der Regel ausgesprochene Bakterizidie gegen Milzbrand-, Typhus- und Choleramikroben erkennen läßt. Das Serum wurde stets als Gerinnungsserum verwendet, die Bakterizidie desselben wurde nach der Plattenmethode geprüft. Bei der nötigen Uebung und bei sorgfältigem Arbeiten unter stets gleichmäßigen Bedingungen gewährt diese Methode überraschend gleichmäßige Resultate in diesbezüglichen Kontrollplatten. Die Zählung der Platten wurde anfänglich mit dem Zählapparate, später nur schätzungsweise vorgenommen, da ja doch nur grobe Differenzen als ausschlaggebend angesehen werden konnten. Die durch Schätzung angenommene Kolonieenmenge wurde anfänglich häufig mit dem Zählapparat kontrolliert. In den folgenden Tabellen bedeutet

---

1) Claude Bernard, Leçons sur la chaleur animale, sur les effets de la chaleur et sur la fièvre. Paris 1876. p. 108 s. et p. 123 s.

2) Claude Bernards Vorlesungen über den Diabetes und die tierische Zuckerbildung. Uebersetzt von Posner. Berlin 1878. Achte Vorlesung. p. 129 f.

3) Ueber den Einfluß von Kohlensäure bezw. von Alkali auf das antibakterielle Vermögen von Blut- und Gewebsflüssigkeit mit besonderer Berücksichtigung von venöser Stauung und Entzündung. (Virchows Archiv etc. Bd. CLVI. 1899. p. 329 f.)

0		keine	Kolonieen
Z	ca.	10	"
MZ	"	10—90	"
H	"	100	"
MH	"	100—900	"
T	"	1000	"
MT	"	1000—9000	"
ZT	"	10 000	"
MZT	"	10 000—30 000	"
∞	"	unzählbare	"

Die in den folgenden Tabellen an erster Stelle gesetzten Buchstaben beziehen sich auf die Kolonieenmenge gleich nach der Einsaat, die darunter gesetzten auf die Menge 4 Stunden nach der Einsaat. Die diesen letzteren beigefügten Zeichen ⟨ oder ⟩ geben an, daß die Kolonieenmenge der zweiten Platte zwar innerhalb derselben Schätzungsgrenzen wie die erste lag, aber doch entschieden kleiner oder größer als diese war.

Die erste Platte wurde sofort nach der Einsaat, die zweite und die dazugehörige Kontrollplatte stets nach 4-stündigem Aufenthalte des Serumgemenges im Thermostaten bei 37° C gegossen. Die verwendeten Mikroben kamen als 1-tägige Agarkulturen in Verwendung, die in 5 ccm Bouillon aufgenommen wurden. Eine völlig gleichmäßige Anthraxkultur wurde dadurch gewonnen, daß 1-tägige Agarkulturen vor der Benützung in 5 ccm Bouillon aufgenommen, darin durch Schütteln fein zerteilt wurden und 3—4 Stunden vor dem Plattengießen im Thermostaten stehen blieben. Der verwendete Stamm (Ax. München), der unter diesen Verhältnissen eine homogene Aufschwemmung ergab, wurde auf Meerschweinchenvirulenz (+ in 24—48 Stunden) erhalten.

Das Serum selbst konnte nicht in unverdünntem Zustande angewendet werden, da in diesem stets maximale Wirkungen hervortraten und feinere quantitative Differenzen der Serumwirkung dabei leicht verdeckt bleiben müssen. Es wurde vielmehr getrachtet, mit der kleinsten eben wirksamen Serumdosis zu arbeiten und zu entscheiden, ob die Größe der wirksamen Minimaldosis in einem Gefäße in den anderen Gefäßprovinzen irgendwelche gesetzmäßigen Schwankungen darbietet.

Allerdings war das ein langwieriges Unternehmen, denn es mußte in einer großen Zahl von Vorversuchen, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll, die Dosis minima efficax für die in Verwendung gezogenen Mikroben jeweilig bestimmt werden, wozu nicht nur das Serum der Arteria carotis, sondern auch dasjenige der anderen Gefäßprovinzen benützt wurde. Die Verdünnung des Serums geschah für Anthrax und Typhus mit Peptonwasser, für Cholera mit Bouillon, wobei stets 1 ccm des Verdünnungsmittels verwendet wurde. Ohne in ein weiteres Detail dieser Versuche hier einzutreten, sei nur betont, daß die Dosis minima bei den von mir verwendeten großen (trocken gefütterten) Kaninchen für Anthrax zwischen 0,1—0,2 ccm, für Typhus zwischen 0,3—0,4 ccm und für Cholera zwischen 0,01—0,03 ccm des Serums ziemlich gleichmäßig gelegen war.

Selbstverständlich können aber diese Maße nicht als absolute und stets gültige Werte aufgefaßt werden, sie unterliegen vielmehr individuellen und manchmal ganz beträchtlichen Schwankungen. Es wurden daher bei allen topischen Serumprüfungen stets verschiedene Verdünnungen vorgenommen, wodurch aber wieder die Zahl der zu gießenden Plattenreihen ganz bedeutend anwächst. Und selbst dann kann man

nicht mit Sicherheit erwarten, gleich bei der ersten Plattenreihe die richtige Dosis zu treffen, was manchmal erst am 2. oder 3. Tage erfolgte. Das ist aber immer schon mißlich, weil die Abnahme der bakteriziden Wirkung selbst beim Stehen der Sera im Eisschranke in Rechnung gezogen werden muß, wodurch sich die Versuche recht komplizieren können. Es sind daher immer lange Plattenreihen nötig, die um so größer werden, je mehr Sera verschiedener Gefäßprovinzen des gleichen Tieres geprüft werden müssen.

Aber diese langen Reihen können nicht umgangen werden, denn die Bestimmung der Dosis minima efficax ist für derartige topische Serumprüfungen von der allergrößten Wichtigkeit. Nur wenn diese in entsprechenden Vorversuchen annähernd bestimmt ist, kann eine topische Vergleichung der einzelnen Sera untereinander stattfinden. Hat man also beispielsweise ermittelt, daß ein Serum für Anthrax eine deutliche Bakterizidie bei einer Dosis von 0,1 ccm, für Cholera bei 0,05 ccm, für Typhus bei 0,3 ccm zeigt, so muß durch gleichzeitige Plattenreihen festgestellt sein, daß für Anthrax eine Dosis von 0,08—0,09, für Cholera eine Dosis von 0,03—0,04, für Typhus eine Dosis von 0,28—0,29 ccm nicht mehr oder nur weit schwächer bakterizid wirkt. Eine Vergleichung der einzelnen Serumproben untereinander, die nicht auf der Dosis minima efficax beruht, müßte zu ganz unbrauchbaren Ergebnissen führen, da zu große Einzeldosen die Wirkung kleinerer wirksamer Dosen schon an und für sich verdecken, und da andererseits auch nur die Wirkungen gleicher, d. i. im gegebenen Falle eben wirksamer Dosen, untereinander verglichen werden dürfen, um zu einem vergleichbaren Maßstabe der bakteriziden Serumwirkung verschiedener Gefäßprovinzen gelangen zu können. Aus dieser kurzen Betrachtung ergibt sich wohl die Wichtigkeit der Bestimmung des eben wirksamen Grenzwertes ohne weiteres. In den folgenden Tabellen ist nur dieser aufgenommen worden, daneben wurde jedoch stets noch zur Vergleichung die Wirkung einer unterwertigen Serumdosis geprüft.

Es braucht wohl nicht besonders betont zu werden, daß bei derartigen topischen Serumprüfungen immer nur kleine Blutentziehungen von etwa 10—15 ccm aus dem betreffenden Gefäße gemacht werden dürfen. Denn bei größeren Blutmengen steigert sich die Gefahr durch die Serumprüfung nicht mehr die örtlichen, durch die Tätigkeit der zunächst gelegenen Organe bedingten Teilwirkungen der Serumbakterizidie zu erfahren, sondern mehr jene Gesamtwirkungen, wie sie durch die Vermengung des Blutes aus dem Gesamtorganismus bei größeren Blutentnahmen aus einem Gefäße zum Ausdrucke kommen.

Man wird aber auch die zeitliche Aufeinanderfolge der einzelnen Blutentnahmen aus den zu prüfenden Gefäßbezirken zu berücksichtigen haben. Denn erstens ruft bei der hier angewendeten sogenannten fraktionierten Blutentnahme jede Blutentziehung an und für sich bereits eine rasch eintretende Veränderung des im Körper zurückbleibenden Restblutes im Sinne einer Verdünnung desselben hervor, wodurch bereits ein störendes Verhältnis bei der Vergleichung der Serumbakterizidie der zuerst und der später entzogenen Blutproben geschaffen ist; und zweitens wird ja auch die zeitliche Dauer der zu den einzelnen Blutentnahmen nötigen Operationen am Tier, die Schwere des behufs Blutentnahme notwendigen operativen Eingriffes und das vorbereitende Verfahren überhaupt berücksichtigt werden müssen.

Es bedarf daher wohl auch keiner weiteren Begründung, wenn bei-

spielsweise eine direkte Vergleichung der Serumbakterizidie des Blutes aus der Arteria carotis und der Portalvene peripherwärts von der Leber oder der Vena cava inferior oberhalb der Leber bei der Schwere des operativen Eingriffes, welche nötig ist, um die beiden letztgenannten Gefäße behufs Blutentziehung bloßzulegen und bei der langen Zwischenzeit, welche infolgedessen notwendigerweise zwischen der ersten und zweiten Blutentziehung verstreichen muß, als nicht statthaft bezeichnet wird.

Um aber diesen bei der Verfolgung der gestellten Aufgabe bis zu einem gewissen Grade unvermeidlichen Versuchsfehlern so weit als tunlich zu begegnen, wurde ad 1) die Reihenfolge der Blutentziehungen in den verschiedenen Versuchen gewechselt, so daß bei der Vergleichung der Resultate der zahlreich vorgenommenen Versuche (im ganzen an 48 Tieren) doch eine Ausschaltung oder doch eine Verkleinerung dieses Versuchsfehlers anzunehmen war.

Ad 2) — und dies erscheint wohl als das Wesentlichere — wurden die am Tier beabsichtigten Blutentziehungen immer erst dann vorgenommen, wenn alle notwendigen, vorbereitenden Operationen bereits vollendet waren, so daß dann die miteinander zu vergleichenden einzelnen Blutentnahmen aus verschiedenen Gefäßprovinzen auch in nur kurzen Zwischenabsätzen, längstens innerhalb 10—15 Minuten durchgeführt werden konnten. Wie wichtig diese Maßregel ist, geht aus zahlreichen Versuchen hervor, bei welchen die einzelnen Blutentziehungen am Tiere nicht in unmittelbarer Aufeinanderfolge am Schlusse aller vorbereitenden Operationen, sondern nach der Bloßlegung jedes einzelnen Gefäßes, also durch längere Zwischenpausen getrennt, vorgenommen wurden.

Wenn beispielsweise unter den eben geschilderten Versuchsbedingungen die Serumsbakterizidie bei den in folgender Reihenfolge vorgenommenen Blutentziehungen bestimmt wurde: 1) Art. carotis, 2) Vena femoralis, 3) Vena portae, 4) rechtes Herz, 5) linkes Herz[1]), so blieb die zeitliche Aufeinanderfolge der einzelnen Blutentziehungen das Maßgebende für die Stärke der Bakterizidie in den verschiedenen Serumproben, d. h. das zuerst entnommene Carotisblut zeigte die stärkste Bakterizidie, das zuletzt entnommene linke Herzblut die schwächste und dazwischen lagen verschiedene Mittelstufen. Jede andere der verschiedentlich variierten Reihenfolgen gaben dann andere Resultate, und es war bald klar, daß auf diesem Wege eine Lösung der aufgeworfenen Frage wegen der durch die Reihenfolge der Blutentziehungen und durch die Schwere des operativen Verfahrens gegebenen Fehler nicht erreicht werden konnte.

Wird aber die Blutentziehung nur auf die Art. carotis und die Vena jugularis oder eine andere leicht und rasch zu präparierende periphere Vene beschränkt, dann findet man in voller Uebereinstimmung mit den Angaben von Hamburger das venöse Blut in der Regel stärker bakterizid als das arterielle. Doch vermag dieser Befund, wenn nicht auch Blutproben anderer Organbezirke beim gleichen Tiere zur Verfügung stehen, noch keinen genügenden Einblick in die topischen Verhältnisse der bakteriziden Serumwirkung, d. i. in ihre Abhängigkeit von Organwirkungen, zu gewähren.

Aber selbst als der oben angedeutete Einfluß des Operationsverfahrens auf die Stärke der Serumbakterizidie der einzelnen Blutpartieen

1) Das Blut aus dem Herzen wurde durch Einstich eines Troicarts gewonnen.

erkannt wurde, und dann in einer weiteren Versuchsreihe die sämtlichen Blutentziehungen am gleichen Tiere ziemlich gleichzeitig am Schlusse der notwendigen vorbereitenden Operationen vorgenommen wurden, ergaben sich immer noch sehr schwankende und in den verschiedenen Versuchen ganz ungleichmäßige Resultate über die Stärke der Bakterizidie der einzelnen Blutproben, so daß die Anschauung nicht von der Hand gewiesen werden konnte, daß durch die Schwere des Eingriffes bei Eröffnung der Brust- oder Bauchhöhle, um das Blut aus den beiden Herzventrikeln oder den einzelnen Gefäßen des Unterleibes zu gewinnen, die bakterizide Wirkung des Blutes an und für sich bereits so hochgradig geschädigt wird, daß feinere Unterschiede dieser Wirkung im Serum der verschiedenen Gefäßabschnitte nicht mehr oder doch nur sehr unvollständig und ungleichmäßig zum Vorschein kommen. Mit dieser Annahme steht auch der Umstand in Uebereinstimmung, daß die zur Erzielung einer deutlichen Bakterizidie in derartig angestellten Versuchen notwendige Serumdosis immer verhältnismäßig groß genommen werden mußte im Vergleiche mit der Serumdosis eines rasch aus Carotis oder Jugularis entbluteten Tieres. Daher mußten auch alle nach diesem Versuchsplane durchgeführten Versuche aufgelassen werden, weshalb diesbezügliche Versuchsprotokolle hier nicht mitgeteilt werden.

Schließlich mußte ich mich darauf beschränken, die bakterizide Wirkung des Blutes einiger peripherer Gefäße am gleichen Tiere untereinander zu vergleichen, wobei die operativen Maßnahmen rasch und ohne wesentliche Schädigung des Tieres durchgeführt werden konnten. Hierbei kamen ausschließlich die Arteria carotis, die Vena jugularis, die Arteria und Vena femoralis unter der Leistenbeuge in Betracht.

Diese Beschränkung war eine notgedrungene, aber sie gestattete doch immerhin einige Vergleiche zu ziehen. Das Blut der Arteria carotis hat außer dem Lungenkreislaufe noch keine anderen wesentlich in Betracht kommenden arteriellen Gefäßbahnen passiert, während das Blut der Arteria femoralis bereits zahlreiche Gefäßbahnen durchströmt hat. Das Jugularvenenblut entströmt direkt dem Hirnkreislaufe, während das Blut der Femoralvene aus einem peripheren Gefäßgebiete abfließt.

Es wurde daher folgendermaßen vorgegangen:

Bei großen 2—3 kg schweren Kaninchen wurden die genannten 4 Gefäße bloßgelegt und dann unmittelbar hintereinander aus jedem der Gefäße ca. 15—20 ccm Blut entzogen. Die Blutentziehungen waren in der Regel 20—25 Minuten nach dem Befestigen des Tieres auf dem Operationsbrette vollendet. Die im Tiere dann noch vorhandene restliche Blutmenge wurde meistens aus der Arteria carotis gewonnen und zu anderen Zwecken verwendet. Die Reihenfolge der Blutentziehungen aus den 4 genannten Gefäßen wechselte in den verschiedenen Versuchen. Die Tiere waren nicht curaresiert, doch schädigt die Anwendung des Curare die Serumbakterizidie nicht in merklichem Grade, wie besondere Versuche ergeben hatten.

Die Alkaleszenzbestimmung des Blutserums erfolgte durch Titration gegen $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure und Zurücktitration gegen $^1/_{10}$ Normalkalilauge; beide Lösungen waren genau gegeneinander eingestellt. Als Indikator diente Methylorange.

Bei mehreren Tieren wurden aus naheliegenden Gründen auch Zählungen der Leukocyten im Blute der 4 Gefäße vorgenommen. Da aber diese Zählungen keine anderen Differenzen erkennen ließen, als dem betreffenden arteriellen und venösen Blute überhaupt zukamen, und

als sie durch die Dauer der Aufspannung des Tieres bedingt waren [1], so wurden derartige Zählungen später ganz unterlassen. Keinesfalls können die ermittelten Differenzen der bakteriziden Wirkung verschiedener Sera auf die Differenzen der Leukocytenmenge des zugehörigen Blutes bezogen werden.

Es folgen nun einige Beispiele dieser an 12 Tieren durchgeführten Versuche.

I. 12. Februar 1906, Kaninchen No. 34, Gewicht 2860 g. Kein Curare. Entblutung am Schlusse sämtlicher vorbereitenden Operationen unmittelbar hintereinander in folgender Reihenfolge:

1) Vena femoralis, Alkaleszenz = 0,857 Proz. KOH
2) Arteria femoralis " = 0,800 " "
3) Vena jugularis, " = 0,800 " "
4) Arteria carotis, " = 0,743 " "

Tabelle I.

Mikroben	Vena femoralis Alk. = 0,857 Proz. KOH		Arteria femoralis Alk. = 0,800 Proz. KOH		Vena jugularis Alk. = 0,800 Proz. KOH		Arteria carotis Alk. = 0,743 Proz. KOH		Resultat
	0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	
B. anthracis	ZT ∞	ZT H	ZT ∞	ZT MT	ZT MT	ZT MT	ZT T	ZT 0	Car > Vf, Af, Jug, Vf > Af, Jug, Jug > Af
	0,35 ccm	0,45 ccm	0,35 ccm	0,45 ccm	0,35 ccm	0,45 ccm	0,35 ccm	0,45 ccm	
B. typhi	MT MT	ZT MT	MT MT<	MT MT<	MT MT<	ZT T	MT MT<	MT T	Jug > Car, Vf, Af, Car > Vf, Af, Af > Vf
	0,12 ccm	0,2 ccm	0,12 ccm	0,2 ccm	0,12 ccm	0,2 ccm	0,12 ccm	0,2 ccm	
V. cholerae	MT ZT	MT MT<	MT ∞	MT MT<	MT ZT	MT MT<	MT ZT	MT MH	Car > Af, Vf, Jug, Af = Vf = Jug.

Vf = Vena femoralis, Car = Arteria carotis, Af = Arteria femoralis, Jug = Vena jugularis.

Es ergibt sich bei der Durchsicht dieses Versuches, daß die Größe des Alkaleszenzwertes des betreffenden Serums allein nicht ausschließlich maßgebend für die Intensität seiner bakteriziden Wirkung angesprochen werden kann; das gilt nicht nur für die bakterizide Wirkung der verschiedenen Sera einer bestimmten Mikrobenart gegenüber, sondern auch bei der Vergleichung der einzelnen Sera gegen die verschiedenen Mikroben, und da noch in weit stärkerem Grade als im ersteren Falle. So zeigt das Carotisserum trotz seiner geringeren Alkaleszenz in diesem Beispiele gegenüber Anthrax und Cholera eine stärkere bakterizide Wirkung als das Jugularis- und das Serum der Vena femoralis, trotzdem dieses letztere den höchsten Alkaleszenzwert aufweist. Dagegen ist das Jugularisserum dem Typhusbacillus gegenüber das wirksamste, während das den stärksten Alkaleszenzwert aufweisende Serum der Vena femoralis die schwächste bakterizide Wirkung diesem Bacillus gegenüber darbietet.

1) Loewit, Studien zur Physiologie und Pathologie des Blutes und der Lymphe. Jena 1892. p. 12 f.

Das sind Verhältnisse, die sich, wenn auch mit mannigfachen Variationen, bei den verschiedenen Versuchen wiederfinden, indessen kamen doch auch solche Fälle vor, bei denen das Jugularisserum, ohne den höchsten Alkaleszenzwert besitzen zu müssen, die stärkste bakterizide Wirkung gegen Anthrax und Typhus darbot. Gegen Cholera war das niemals der Fall, hier war stets das Carotisserum das wirksamere, vorausgesetzt, daß die Blutentnahme aus diesem Gefäßgebiete nicht gar zu lange verzögert wurde.

Zeigt schon ein Blick auf den letzten Stab der Tabelle I, daß tatsächlich topische Differenzen der bakteriziden Serumwirkung des Blutes verschiedener Gefäßprovinzen bestehen, die nicht auf die erörterten Versuchsfehler bezogen werden können, so spricht namentlich noch die den verschiedenen Mikroben gegenüber wechselnde Größe der eben wirksamen Serumsdosis in dem gleichen Sinne. Es war nicht nur in allen Versuchen das Carotisserum, wenn es auch als das letzte gewonnen wurde, das wirksamste gegen den Choleravibrio, es ergab dieses Serum auch stets die kleinste Dosis minima efficax gegen Cholera, die oft bereits bei 0,03 ccm erreicht war, während die eben wirksame Dosis des gleichen oder des Jugularisserums bei demselben Tiere gegen Anthrax stets höher (zwischen 0,08 und 0,2 ccm), jene gegen Typhus am höchsten lag (zwischen 0,3 und 0,5 ccm). In keinem Versuche wurde das Serum der Arteria oder Vena femoralis stärker bakterizid, als jenes der Arteria carotis oder Vena jugularis befunden, auch wenn die Entblutung aus den beiden erstgenannten Gefäßen jener der beiden letzteren vorausgegangen war.

Ein zeitlicher Einfluß der Entblutung auf die Größe der bakteriziden Serumwirkung ist also bei der gewählten Versuchsanordnung ausgeschlossen, wenn auch andererseits nicht geleugnet werden kann, daß ein solcher Einfluß sich unter den gleichen Verhältnissen in den Alkaleszenzwerten ausprägen kann, indem das zuerst entleerte Blut den größten, das zuletzt entleerte den kleinsten Alkaleszenztitre ergeben kann, was in dem Versuche der Tabelle I auch tatsächlich der Fall war. Indessen kamen auch Tiere vor, bei welchen auch das zuletzt entleerte Blut den gleichen, eventuell sogar einen größeren Alkaleszenzwert als das zuerst entleerte darbot.

Als das wichtigste Resultat des vorausgehenden und analog ausgeführter Versuche darf wohl bezeichnet werden, daß die bakterizide Wirkung der verschiedenen Sera unabhängig von der zeitlichen Folge der Entblutung, nicht nur der gleichen Mikrobenart, sondern auch verschiedenen Mikroben gegenüber deutliche Differenzen darbietet, welche auf topische Verhältnisse hinzuweisen scheinen, und daß ferner das Carotisserum gegen Anthrax und Cholera, das Jugularisserum gegen Typhus als das wirksamere angesprochen werden muß.

II. 5. Februar 1906. Kaninchen No. 33. Gewicht 2570 g. Kein Curare. Entblutung am Schlusse sämtlicher vorbereitender Operationen unmittelbar hintereinander in folgender Reihenfolge:

1) Arteria femoralis,	Alkaleszenz	= 0,700	Proz. KOH
2) Vena jugularis,	"	= 0,700	" "
3) Arteria carotis,	"	= 0,610	" "
5) Vena femoralis,	"	= 0,650	" "

(S. Tabelle II.)

Dieser Versuch erscheint deshalb von Interesse, weil hier die Alkaleszenzwerte der Arteria femoralis und Vena jugularis identisch, die

Tabelle II.

Mikroben	Arteria femoralis Alk. = 0,700 Proz. KOH		Vena jugularis Alk. = 0,700 Proz. KOH		Arteria carotis Alk. = 0,610 Proz. KOH		Vena femoralis Alk. = 0,650 Proz. KOH		Resultat
	0,12 ccm	0,22 ccm	0,12 ccm	0,22 ccm	0,12 ccm	0,22 ccm	0,12 ccm	0,22 ccm	
B. anthracis	MZT ∞	MZT MZT	MZT ∞	ZT Z	ZT ∞	MZT MT	ZT ∞	ZT ∞	Jug > Car, Af, Vf, Car > Af, Vf, Af > Vf
	0,37 ccm	0,47 ccm	0,37 ccm	0,47 ccm	0,37 ccm	0,47 ccm	0,37 ccm	0,47 ccm	
B. typhi	ZT MT	ZT T	ZT T	ZT H	ZT MT	ZT T	ZT MT	ZT MT	Jug > Car, Af, Vf, Car, Af > Vf, Car = Af
	0,03 ccm	0,08 ccm	0,03 ccm	0,08 ccm	0,03 ccm	0,08 ccm	0,03 ccm	0,08 ccm	
V. cholerae	MT ∞	MT T	MT ∞	MT MT (	MT ∞	MT H	MT ∞	MT MZT	Car > Af, Jug, Vf, Af > Jug, Vf, Jug > Vf

Abkürzungen wie in Tabelle I.

bakteriziden Wirkungen der beiden Sera aber doch zu Gunsten der Jugularvene verschieden sind. Andererseits bietet dieser Fall eine Bestätigung der Hamburgerschen Beobachtung, ohne daß aber daraus die stärkere bakterzide Wirkung des venösen Blutes überhaupt abgeleitet werden könnte, denn das in seinem Alkaleszenzwerte nicht unbeträchtlich tieferstehende Carotisserum zeigt sich in seiner bakteriziden Wirkung gegen Cholera den beiden venösen Seris gegenüber (Jugularis und Femoralis) bedeutend überlegen. Diese beiden letzteren untereinander gegen Cholera verglichen, zeigen wieder eine entschiedene Ueberlegenheit des Jugularisserums, während andererseits das Femoralisserum, trotzdem es in der Reihenfolge der Entblutungen zuletzt gewonnen wurde und bezüglich seiner bakteriziden Wirkung auch an letzter Stelle steht, doch bezüglich seiner Alkaleszenz einen höheren Wert als das Carotisserum zeigt. Die Inkongruenz zwischen der bakteriziden Wirkung eines Serums und seinem Alkaleszenztitre geht wohl aus diesem Beispiele genügend hervor, sie tritt aber in dieser Schärfe nur bei Beachtung der Dosis minima efficax als Maßstab der bakteriziden Wirkung hervor.

Im übrigen stimmt dieser Versuch im großen und ganzen gut mit dem in der Tabelle I überein, auf kleinere Differenzen soll hier nicht näher eingegangen werden. Auf den Umstand, daß im ersten Beispiele (Tabelle I) das Carotisserum, im zweiten (Tabelle II) das Jugularisserum das wirksamere gegen Milzbrand war, wird im folgenden noch genauer zurückzukommen sein.

III. 15. Januar 1906. Kaninchen No. 32, Gewicht 2800 g. Kein Curare. Blutentnahme am Schlusse sämtlicher vorbereitender Operationen unmittelbar hintereinander in folgender Reihenfolge:

1) Arteria carotis, Alkaleszenz = 0,743 Proz. KOH
2) Vena jugularis, „ = 0,857 „ „
3) Arteria femoralis, „ = 0,743 „ „
4) Vena femoralis, „ = 0,743 „ „

Hierzu Tabelle III und IV.

Tabelle III (Versuch am 17. Januar 1906).

Mikroben	Arteria carotis Alk. = 0,743 Proz. KOH		Vena jugularis Alk. = 0,857 Proz. KOH		Arteria femoralis Alk. = 0,743 Proz. KOH		Vena femoralis Alk. = 0,743 Proz. KOH		Resultat
	0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	0,1 ccm	0,2 ccm	
B. anthracis	MT H	MT Z	MT MT⟩	MT Z	MT MT⟩	MT Z	MT MZT	MT T	Car⟩ Jug, Af, Vf, Jug⟩ Af, Vf, Af⟩ Vf
	0,35 ccm	0,45 ccm	0,35 ccm	0,45 ccm	0,35 ccm	0,45 ccm	0,35 ccm	0,45 ccm	
B. typhi	MT MT	MT MH	MT MH	MT MZ	MT MT	MT T	MT ZT	MT MT	Jug⟩ Car, Af, Vf, Car⟩ Af, Vf, Af⟩ Vf
	0,03 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,1 ccm	
V. cholerae	MT MH	MT MZ	MT ∞	MT H	MT ∞	MT MH	MT ∞	MT MH	Car⟩ Jug, Af, Vf, Jug⟩ Af, Vf, Af = Vf

Abkürzungen wie in Tabelle I.

Tabelle IV. (Versuch am 18. Januar 1906).

Mikroben	Arteria carotis Alk. = 0,743 Proz. KOH		Vena jugularis Alk. = 0,857 Proz. KOH		Arteria femoralis Alk. = 0,743 Proz. KOH		Vena femoralis Alk. = 0,743 Proz. KOH		Resultat
	0,15 ccm	0,23 ccm	0,15 ccm	0,23 ccm	0,15 ccm	0,23 ccm	0,15 ccm	0,23 ccm	
B. anthracis	MT ∞	MT ∞	ZT ∞	MT T	MT ∞	MT ∞	MT ∞	MT ∞	Jug⟩ Car, Af, Vf, Car = Af = Vf
	0,4 ccm	0,5 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	0,4 ccm	0,5 ccm	
B. typhi	MT ZT	MT MT⟨	ZT MT	ZT T	ZT ZT	MT MT⟨	MT MT	MT MT	Jug⟩ Car, Af, Vf, Car⟩ Af, Vf, Af⟩ Vf
	0,03 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,1 ccm	
V. cholerae	MT MH	MT MZ	MT ∞	MT H	MT ∞	MT MH	MT ∞	MT MH	Car⟩ Jug, Af, Vf, Jug⟩ Af, Vf, Af = Vf

Abkürzungen wie in Tabelle I.

Der vorliegende Versuch zeigt die Alkaleszenzwerte des Serums dreier Gefäßbezirke (Art. carotis, Art. femoralis, Vena femoralis) auf gleicher Höhe, nur das Serum der Jugularvene besitzt eine wesentlich höhere Alkaleszenz. Nichtsdestoweniger sind auch hier die Differenzen der bakteriziden Serumwirkung bei den einzelnen Gefäßen ganz deutlich und gleichartig jenen der vorausgegangenen Versuche. Es erweist sich auch hier das Carotisserum als das wirksamere gegen Anthrax und Cholera, das Jugularisserum gegen Typhus. Die eben wirksamen Grenzwerte der einzelnen Sera halten sich auch hier nahezu in gleichen Größen wie in den anderen Versuchen, und wieder ist der eben wirksame Grenzwert für Cholera wesentlich niedriger als jener für Anthrax und Typhus.

Die beiden Tabellen dieses Versuches illustrieren auch den Wechsel der eben wirksamen Grenzwerte, der sich in einzelnen Versuchen, durchaus aber nicht in allen, bei der Untersuchung an zwei aufeinanderfolgenden Tagen einstellen kann. Man sieht den Grenzwert für Anthrax und Typhus deutlich ansteigen, während jener für Cholera stationär blieb. Ganz analoge Beobachtungen wurden noch mehrfach gemacht, woraus sich der Eindruck ergab, daß die bakterizide Wirkung der Sera gegen Anthrax- und Typhusbacillen mit Bezug auf die durch das Stehenlassen bedingte Schädigung wesentlich empfindlicher als jene gegen Choleravibrionen ist, die letztere zum mindesten sich im Serum unter den gewählten Versuchsbedingungen besser konserviert. Ob hierin ein Ausdruck verschiedener bakterizider Substanzen gegen die betreffenden Mikroben erblickt werden kann, soll hier nicht näher erörtert werden.

Es sei hier ferner noch auf den Umstand aufmerksam gemacht, daß am ersten Tage der Untersuchung (Tabelle III) das Carotisserum das wirksamere gegen Anthraxbacillen war, während am folgenden Tage (Tabelle IV) das Jugularisserum diese Rolle eingenommen hatte. Ein analoger Wechsel kam einige Male zur Beobachtung, auch für Typhusbacillen wurde hier und da ein solcher Wechsel konstatiert. Niemals aber, was besonders betont werden muß, war der Wechsel ein derartiger, daß mit Bezug auf den eben wirksamen Grenzwert das Serum der Arteria oder Vena femoralis an die Stelle der Carotis oder Jugularis trat. Nur diese beiden Sera wechselten gelegentlich untereinander die Stelle. Es macht den Eindruck, als ob die bakterizide Wirkung der Sera dieser beiden Gefäße gegenüber Anthrax- und Typhusbacillen von gleichen oder ähnlichen Bedingungen abhängig und bis zu einem gewissen Grade auch untereinander vertretbar sind. Die bakterizide Wirkung des Jugularisserums scheint jedoch etwas stabiler (gegen die oben erwähnten Schädigungen) zu sein, zum mindesten wurde der eben besprochene Wechsel der beiden Sera niemals beobachtet, wenn das Jugularisserum sich von vornherein als das stärker wirksame erwies, sondern immer nur dann, wenn in einem Versuche das Carotisserum in seiner bakteriziden Wirkung gegen Anthrax und Typhus an erster Stelle stand.

Durch diese Auseinandersetzungen ist indessen eine Erklärung der eben erörterten Erscheinung nicht gegeben, diese muß vielmehr weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Ueber die Beziehungen der Serumalkaleszenz zur bakteriziden Wirkung sollen hier nur wenige Bemerkungen Platz finden. Uebereinstimmend hat sich in allen Versuchen ergeben, daß die Größe der Alkaleszenz in entschiedener Abhängigkeit von der Reihenfolge der Entblutung in dem Sinne steht, daß in der Regel das zuerst entnommene Blut die stärkere alkalische Reaktion gegenüber den folgenden Blutproben besitzt, wobei höchstwahrscheinlich die durch jede Blutentziehung bedingte Verdünnung des zirkulierenden Blutes eine nicht unwesentliche Rolle spielen dürfte; doch kommen auch Ausnahmen von dieser Regel vor, wie gerade der sub III mitgeteilte Versuch zeigt. Es konnte bereits mehrfach darauf hingewiesen werden, daß die Höhe des Alkaleszenzwertes nicht als das ausschließlich Maßgebende für die Intensität der Serumbakterizidie angesprochen werden kann, sondern daß vielmehr der Ort der Blutentziehung in dieser Beziehung eine nicht unwesentliche Rolle spielt, die allerdings noch nicht genügend geklärt ist. Das venöse Serum kann daher nicht als das in bakterizider Beziehung unter allen Verhältnissen wirksamere gegenüber dem arteriellen Serum angesprochen werden, wie die ver-

gleichenden Versuche zwischen Carotis- und Jugularisserum einerseits und zwischen dem Serum der Arteria und Vena femoralis andererseits zeigen. Die stärkere bakterizide Wirkung des venösen Serums aus der Vena jugularis gegen Typhus und Anthrax ist im venösen Serum der Vena femoralis auch dann nicht nachweisbar, wenn das Blut aus diesem letzteren Gefäße als erstes in der Reihenfolge der 4 untersuchten Gefäße dem Tiere entnommen wurde, und wenn auch der Alkaleszenzwert des Serums der Vena femoralis höher als jener des Jugularisserums war (Versuch und Tabelle I).

Die stärkere bakterizide Serumwirkung gegen Cholera wurde in der Regel im Carotisserum, also im arteriellen Serum, angetroffen, dessen Alkaleszenzwert stets tiefer als jener des Jugularisserums befunden wurde. Aber auch hier läßt sich die, auf das arterielle Serum der Arteria carotis lokalisierte, stärkere bakterizide Wirkung gegen Cholera nicht für das arterielle Serum überhaupt verallgemeinern, denn das Serum der Arteria femoralis war in dieser Beziehung stets jenem der Arteria carotis unterlegen, selbst dann, wenn das Blut aus jenem Gefäße an erster Stelle oder doch vor dem Aderlasse aus der Arteria carotis dem Tiere entzogen wurde und einen höheren Alkaleszenzwert als dieses letztere besaß (Versuch und Tabelle I und II).

Diese wenigen Hinweise mögen vorläufig genügen, um zu zeigen, daß die absolute Höhe des Alkaleszenzwertes im Serum nicht das allein Maßgebende für die Intensität der bakteriziden Serumwirkung sein kann.

Diese eben erörterten Differenzen der bakteriziden Wirkung von Seris verschiedener Gefäßprovinzen veranlaßten auch die Prüfung der Frage, ob nicht auch verschiedene Portionen des gleichen Serums analoge Differenzen erkennen lassen, wie sie im Vorausgehenden für verschiedene Portionen des Serums verschiedener Gefäßprovinzen geschildert wurden. Es wurden deshalb an drei Tieren gleiche Serummengen desselben Serums (Art. carotis und femoralis, Vena jugularis) in ihrer bakteriziden Wirkung untereinander verglichen und der Alkaleszenzwert gleichzeitig bestimmt. Dabei wurden jeweilig vier gleiche Mengen des gleichen Serums untereinander verglichen, von denen jede Dosis aus verschiedener Höhe des Serums entnommen wurde. Alle in dieser Richtung angestellten Versuche verliefen im wesentlichen gleichartig, und es wird daher genügen, wenn als Beispiel hier nur ein solcher Versuch angefügt wird. (26. Februar 1906. Kaninchen No. 35, Gewicht 2500 g.)

(S. Tabelle V.)

Der Versuch zeigt, daß in verschiedenen Proben des gleichen Serums solche Differenzen der bakteriziden Wirkung, wie sie bei der Vergleichung verschiedener Sera auftreten, nicht vorhanden sind; die in diesem Falle nachweisbaren Differenzen bewegen sich nur in den Grenzen der durch die Methode selbst veranlaßten Schwankungen. Die in den vorausgehenden Beobachtungen ermittelte Differenz der Bakterizidie in den Serumproben verschiedener Gefäßprovinzen des gleichen Tieres kann mithin nicht identifiziert werden mit etwaiger wechselnder bakterizider Intensität in verschiedenen Proben desselben Serums, vielmehr dürfte nach dem vorliegenden Beobachtungsmaterial die Annahme kaum zu umgehen sein, daß für jene Differenzen die örtlichen Verhältnisse der Blutentnahme von Bedeutung sind.

Tabelle V.

Mikroben	Arteria femoralis Alk. = 0,857	0,854 Proz. KOH	0,861	0,860	Vena jugularis Alk. = 0,896	0,894 Proz. KOH	0,910	0,900	Arteria carotis Alk. = 0,788	0,747 Proz. KOH	0,773	0,777
	0,1 ccm	0,1 ccm	0,15 ccm	0,15 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,15 ccm	0,15 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,15 ccm	0,15 ccm
B. anthracis	ZT MT	ZT MT	ZT T	ZT T	ZT H	ZT H	ZT 0	ZT 0	ZT T	ZT T	ZT MZ	ZT MZ
	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm	0,55 ccm
B. typhi	MT MT (	MT MT (	MT MT (	MT MT (	MT T	MT T	MT T	MT T	MT MT)	MT MT)	MT MT)	MT MT)
	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm	0,1 ccm
V. cholerae	MT MH	MT MH	MT MH	MT MH	MT MZ	MT MZ	MT MZ	MT MZ	MT 0	MT Z	MT 0	MT Z

Reihenfolge der Blutentziehungen: 1) Art. femoralis, 2) Vena jugularis, 2) Art. carotis.

Die Alkaleszenzwerte beziehen sich auf 4 verschiedene Proben des betreffenden Serums.

Aus allen in der angeführten Weise angestellten Versuchen ergibt sich, daß die aus den 4 erwähnten Gefäßgebieten verwendeten Sera in ihrer bakteriziden Wirkung ungleichartig waren, und daß die Größe der bakteriziden Wirkung eines Serums (gemessen an der Dosis minima efficax) bis zu einem gewissen Grade unabhängig von der Reihenfolge der Blutentziehung und von dem absoluten Alkaleszenzwerte ist. In der Regel war das Carotisserum das wirksamste gegen Cholera, und stets war Carotis- und Jugularisserum gegen Anthrax und Typhus wirksamer als das Serum der Arteria und Vena femoralis des gleichen Tieres. Im allgemeinen wird man sagen können, daß Carotis- und Jugularisserum gegen die verwendeten Mikroben wirksamer als das arterielle und venöse Femoralisserum befunden wurde.

Da nun das Blut des linken Herzens (und daher auch das Carotisblut) eben den Lungenkreislauf passiert hat, so wird man wohl bei der stärkeren bakteriziden Wirkung des Carotisserums gegenüber jenem der Arteria femoralis mit einem gewissen Grad von Wahrscheinlichkeit auf eine günstige Beeinflussung dieser Wirkung durch die Lunge denken dürfen. Allerdings wäre es zur Stütze dieser Vermutung wünschenswert gewesen, die bakterizide Serumwirkung des rechten und des linken Herzens miteinander vergleichen zu können; allein die daraufhin gerichteten Versuche scheiterten, wie bereits erwähnt wurde, abgesehen von anderen gegen dieselben zu erhebenden Bedenken vor allem an der Schwere des Eingriffs, welche die Bloßlegung des Herzens mit sich bringt, wodurch an und für sich die bakterizide Serumwirkung viel zu intensiv geschädigt wird, die feineren Differenzen dieser Wirkung daher nicht mehr zum Ausdruck kommen.

In analoger Weise wird man bei der intensiven bakteriziden Wirkung das Jugularisserum im Vergleiche zum venösen Femoralisserum an eine günstige Beeinflussung dieser Wirkung durch das Gehirn denken dürfen, aus welchem das Blut durch die Jugularvene abfließt. Diese Auffassung

steht in guter Uebereinstimmung mit den Resultaten meiner vorausgehenden Mitteilung [1]), welche eine hochgradige, allerdings nur für Anthrax erwiesene Bakteriolyse innerhalb Gehirn und Lunge des Kaninchens wahrscheinlich gemacht haben. Auch die Versuche von Snel [2]) weisen auf einen intensiven Untergang von Milzbrandbacillen innerhalb der normalen Lunge von Meerschweinchen hin.

Erscheint nun mit dieser topisch differenten bakteriziden Wirkung des aus verschiedenen Gefäßen gewonnenen Blutserums bereits die Annahme erwiesen, daß diese Differenz als der Ausdruck von Organwirkungen aufgefaßt werden kann? Gewiß nicht. Die mitgeteilten Versuche sind viel zu subtil, die Deutung derselben viel zu kompliziert, um gegenwärtig bereits zu bestimmten Ergebnissen führen zu können. Es ist nur wahrscheinlich gemacht, daß an der differenten bakteriziden Wirkung des Blutes verschiedener Gefäßprovinzen die Funktion jener Organe mitbeteiligt sein dürfte, welche das Blut zunächst durchflossen hat. Zur Begründung dieser Vermutung werden erst weitere Versuche erforderlich sein.

Ob nun die stärkere bakterizide Wirkung, welche sich in den Seris gewisser Gefäßbezirke bemerkbar macht, bereits als der Ausdruck einer stärkeren Komplementwirkung angesehen werden darf, muß vorläufig gleichfalls unentschieden bleiben, da ja diese stärkere bakterizide Wirkung immerhin auch auf andere Weise veranlaßt sein könnte. Namentlich wird man bei der stärkeren bakteriziden Wirkung an den Wegfall von Hemmungen (Antikomplemente oder Antiambozeptoren) in gewissen Seris, bei der schwächeren bakteriziden Wirkung hingegen an eine eventuelle Beeinträchtigung der Komplementwirkung durch einen Ueberschuß von Ambozeptoren oder ähnliche Verhältnisse (Komplementablenkung) zu denken haben. Aber immerhin wäre auch in diesem Falle eine Mitbeteiligung von Organwirkungen an der hier erörterten differenten Serumbakterizidie nicht ausgeschlossen. Auch in dieser Beziehung werden erst weitere Versuche die nötige Aufklärung zu erbringen haben.

Bemerkungen über die Pasteursche Methode der Schutzimpfungen gegen Tollwut.

[Aus der Privatanstalt für Schutzimpfungen gegen Tollwut des Herrn Prof. Bujwid in Krakau.]

Dritte Mitteilung [3]).

Von Dr. **R. Nitsch**, Assistenten am hyg. Institute der Universität.

„Primum: non nocere."

Im Jahre 1904 wurden in der ersten Mitteilung Beweise gesammelt, welche die Unschädlichkeit des fixen Virus bei subkutanen Einimpfungen bei Menschen dartun. Dort wurde auch über die ersten Schritte be-

1) Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien. Math.-nat. Kl. Bd. CXIII. Abt. III. Oktober 1904.
2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XL. 1902. p. 103.
3) „Zweite Mitteilung" siehe diese Zeitschr. Bd. XLII. 1906. p. 647.

richtet zur Behandlung der Menschen mit frischem fixen Virus. Endlich wurden Experimente erwähnt, welche im Krakauer hygienischen Institute mit fixem Virus angestellt wurden[1]).

In der zweiten Mitteilung wurde dann besprochen, ob die Pasteursche Methode nicht manchmal bei den Behandelten schädlich einwirkt, dann, ob sie in manchen Fällen die Inkubationsdauer der Krankheit nicht verlängert; endlich wurde gezeigt, daß das männliche Geschlecht um 2 Wochen später nach dem Bisse an Wut stirbt. als das weibliche.

In dieser Mitteilung soll über das weitere Behandeln der Menschen mit immer frischerem fixen Virus berichtet werden.

Wie schon in der ersten Mitteilung vom Jahre 1904 beschrieben wurde, behandelte man bei uns seit September bis Dezember 1903 mit 6—1-tägigen Marken 108 Personen mit gutem Erfolge. Darunter waren 52 Menschen, welche aus verschiedenen Gründen noch intensiver behandelt wurden, nämlich mit 4—3-tägigen bis 1-tägigen Marken.

Dann wurde vom 1. Januar bis zum 14. März 1904 wieder die ältere Behandlungsmethode angewandt, nämlich mit 8-tägigen Marken angefangen und mit 2-tägigen geendigt. Auf diese Weise wurden 100 Personen behandelt, von welchen 2 an Wut starben. (In der ersten Mitteilung wurde nur eine erwähnt: Es war ein 72-jähriger Greis J. L. aus Russisch-Polen; erst im Januar 1905 ist die Nachricht angelangt, daß außerdem noch ein 14-jähriges Mädchen M. Ch. aus Galizien (Cieszanów) starb, welches damals anfangs März 10 Tage behandelt wurde und erst am 1. Januar 1905 — 288 Tage nach Beendigung der Kur — der Wut erlag). Die beiden Verstorbenen waren tief in die Hand gebissen.

Vom 15. März 1904 an gebrauchten wir wieder eine energischere Behandlung. Es wurde nämlich mit 5-tägigen Marken angefangen und mit 1-tägigen geendigt. Auf diese Weise wurde bis zu Ende des Jahres 1904 fortgefahren.

Seit dem 15. März bis zu Ende des Jahres 1904 ereigneten sich unter den Behandelten wieder 2 Todesfälle an Wut: 1) Z. K., ein 11-jähriges Mädchen, am 19. Juli von einem Hunde in die Hand gebissen, vom 22.—31. Juli (9 Tage) behandelt, erkrankte an Wut am 12. August und starb nach 5-tägiger Krankheit. 2) K. G., ein 65-jähriges Weib, von einem Hunde am 7. Juli in die Hand gebissen, behandelt vom 12. Juli nur 8 Tage lang. Es erkrankte am 22. September und starb am 25. September an Wut.

Von diesen 2 Todesfällen sollte eigentlich nur der erste der Statistik zur Last fallen. Nämlich die alte K. G. wollte trotz Ermahnungen die Kur nicht beendigen und ist am 8. Tage weggefahren. Sie wurde also gar nicht mit 1-tägigem Marke behandelt, weil dieses erst in den letzten 2 Tagen appliziert wurde. Daß sie wahrscheinlich gerettet worden wäre, wenn sie die Kur beendigt hätte, zeigt auch der relativ späte Ausbruch der Krankheit bei ihr. Sie erkrankte nämlich erst nach mehr als 50 Tagen nach dem Verlassen der Anstalt. Und es soll hier sofort erwähnt werden, daß wir in der Bujwidschen Anstalt seit 15. März 1904 bis zu Ende des Jahres 1905, wo die verstärkten Impfungen angewandt waren, sonst keinen einzigen Fall zu verzeichnen haben, wo die Krankheit später als 2 Wochen nach Beendigung der Kur ausgebrochen wäre.

1) Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 36.

Im ganzen sind also im Jahre 1904 616 Personen behandelt worden und von denen sind 4 an Wut gestorben.

Von diesen 616 Gebissenen sind nach der älteren Methode (8—2-tägiges Mark 2mal täglich durch 10 Tage) 100 behandelt worden; von denen starben 2. Die anderen 516 (seit 15. März 1904) sind energischer kuriert worden, nämlich mit 5—1-tägigen Marken 2mal täglich durch 10 Tage. Von diesen starben auch 2 Personen, deren eine jedoch nicht mitgezählt werden kann, weil sie keine 1-tägige Marke bekam.

Diese Statistik zeigt also eine bedeutende Verminderung der Todesfälle seit Anwendung der energischeren Behandlung.

Blicken wir noch auf das Jahr 1903 zurück. In diesem Jahre wurden insgesamt 556 Personen kuriert, von denen 4 starben. Nach der älteren Methode wurden (bis 7. September 1903) 448 Personen behandelt; von diesen starben 4. Energischer (Anwendung 1-tägiger Marke, Anfang von 6- oder 4-tägigen) wurden 108 Menschen behandelt, von denen keiner starb.

Wenn wir jetzt die Statistiken der Jahre 1903 und 1904 zusammenfassen, so erhalten wir folgendes Bild:

Im Jahre 1903 wurden 556 Personen behandelt; es starben 4.

Im Jahre 1904 wurden 616 Personen behandelt; es starben 4.

Von diesen wurden behandelt:

Nach der älteren Methode 548; von diesen starben 6 = 1,09 Proz.

Nach der energischen Methode 624; von diesen starben 2 = 0,33 Proz., von denen jedoch, wie oben gezeigt wurde, eine nicht mitgezählt werden sollte.

Wir sehen also, daß die Statistiken der vergangenen 2 Jahre uns einen deutlichen Hinweis gaben, daß wir auch weiter energischer impfen sollen. So taten wir es auch seit Anfang des Jahres 1905.

Es muß hier bemerkt werden, daß die Herren Z. Klemensiewicz (beständig) und Dr. Ph. Eisenberg (einige Monate) nach diesem meinem, von Herrn Prof. Bujwid approbierten Plane geimpft haben. Ich persönlich konnte nur teilweise bei dieser Arbeit mitwirken. Ohne Beihilfe also der Herren Z. Klemensiewicz und Dr. Ph. Eisenberg und ohne Genehmigung des Herrn Prof. Bujwid würde ich nicht im stande gewesen sein, meinen Plan konsequent 2 Jahre durchzuführen.

Wie gesagt, impften wir auch im Jahre 1905 energisch. Wir gebrauchten in diesem Jahre die Marke von Kaninchen der 899.—949. Passage. Dieselben waren im Eiskasten im Zimmer gehalten. Gewöhnlich war auch Eis darin, jedoch manchmal, besonders anfangs, haben wir wochenlang kein Eis verwendet. Leider ist das Resultat in diesem Jahre nicht so günstig geblieben wie früher. Gleich im Januar 1905 kam die Nachricht, daß ein junger Knabe, W. S., von der Anstalt nach Hause zurückkehrend, im Waggon erste Anzeichen der rasenden Wut bekam und, ins Spital nach Przemyśl gebracht, dort nach 2 Tagen starb. Dieser Knabe, von einem Hunde in die Hand gebissen, kam erst 12 Tage später in die Anstalt, wurde hier 12 Tage bis zum 17. Januar 1905 behandelt und starb schon am 21. Januar an Wut. Er starb also 4 Tage nach Beendigung der Kur und 28 Tage nach dem Bisse. Er erlag einer ausgesprochen rasenden Wut.

Anfangs April 1905 ereignete sich der zweite Todesfall. T. B., eine 36-jährige Tischlersfrau aus Neu Sandez, wurde von einem wütenden Hunde (Wutnachweis durch eine tierärztliche Sektion erbracht) in die Hand gebissen. Sie kam zur Behandlung erst 16 Tage nach dem Bisse,

wurde 12 Tage energisch geimpft und hat am 1. April 1905 die Anstalt verlassen. Jedoch schon am 4. April erhielten wir von Dr. Męski einen Brief, welchen ich hier in wörtlicher Uebersetzung zitiere: „Am 2. April wurde ich zur Frau T. B. gerufen, welche in der Anstalt des Herrn Prof. Bujwid vom 20. März bis zum 1. April verweilte und dort 22 Impfungen bekam. Innere Organe normal, Puls 72, Temperatur 36,4° C, Kopfschmerzen, leichte Steifigkeit im Nacken, Paresen der Extremitäten, hauptsächlich der unteren, Sensorium frei, keine Paralysen der Gehirnnerven, keine Krämpfe.

3. April, bei der zweiten Untersuchung, der allgemeine Zustand unverändert. Es kam jedoch Verschlucken beim Essen hinzu sowie eine Erschwerung beim Sprechen und Husten, eine absolute Paralyse der Extremitäten, hauptsächlich der unteren, ohne Steifigkeit, Verminderung des Tastgefühls am ganzen Körper. Die Kranke hat auch kein Bewußtsein, wenn sie Urin oder Kot abgeben soll, und befriedigt ihre natürlichen Bedürfnisse nur, weil sie weiß, daß sie dieselben wie früher befriedigen soll.“ Soviel im Briefe: Am 4. April abends kam eine Depesche, daß die Kranke unter fortwährender Steigerung der paralytischen Symptome gestorben sei.

Die arme Frau starb also 3 Tage nach Beendigung der Kur und 31 Tage nach dem Bisse.

Ich muß gestehen, daß dieser Fall sowohl mich wie uns alle im Institute erschütterte. Es mußte die Frage gestellt werden, ob nicht doch die angewandte energische Behandlung der Frau geschadet hat, hauptsächlich deshalb, weil der Verlauf der Krankheit unter ausschließlich paralytischen Erscheinungen sehr verdächtig ausgesehen hat. Sollten nun die energischen Impfungen — angesichts dieses traurigen Falles — weiter fortgeführt werden oder sollten wir wieder zur alten Behandlungsweise zurückkehren?

Die Statistik der Jahre 1903 und 1904 sprach entschieden für die energischere Behandlungsweise, die 2 Todesfälle, welche wir damals im Jahre 1905 zu verzeichnen hatten, betrafen Personen, welche sehr spät erst nach 12 und nach 16 Tagen nach dem Bisse zur Behandlung kamen; andererseits hatten wir bis dahin von den energisch Behandelten und am Kopfe oder im Gesicht Gebissenen keinen einzigen verloren. Es ist aber allgemein bekannt, daß die Kopf- und Gesichtswunden die gefährlichsten sind; wir wußten es auch und behandelten diese Kategorie der Gebissenen am energischesten. Solche Menschen waren im Jahre 1905 16 Tage behandelt (früher 14 Tage) und sie bekamen sehr große Dosen von 1-tägigem Marke. Trotzdem ist bis damals keiner gestorben. Es starben nur Leute, welche in die Hand gebissen waren und viel schwächer behandelt wurden. Darauf richtete Herr Z. Klemensiewicz meine Aufmerksamkeit. Schließlich sind doch genug Fälle bekannt, wo die paralytische Wut von Anfang an bei Menschen ausbrach, welche niemals nach der Pasteurschen Methode behandelt waren. Gamaleia hat solche Fälle beschrieben.

Und so entschlossen wir uns schließlich, bei der energischen Behandlungsweise auch ferner zu bleiben, obwohl ich vieles von dem Vertrauen verloren habe, mit welchem ich diese Methode noch vor einigen Monaten gebrauchte.

Wie in der ersten Mitteilung erwähnt wurde, dauerte früher die Behandlung bei uns 10 Tage, nur die schwer Gebissenen sind 12 und ausnahmsweise 14 Tage behandelt worden. Seit Anfang des Jahres

1905 wurde jedoch die Behandlungsdauer um 2 Tage verlängert, so daß nur die ganz leicht und nicht am nackten Körper Gebissenen 10 Tage behandelt wurden, sonst aber alle 12—14 Tage und die am Gesicht Gebissenen 16 Tage. Dabei wurde immer 2mal täglich geimpft. Wir gebrauchten auch immer dichte, oft sogar sehr dichte Emulsionen; es kamen nämlich auf eine Impfung und für eine Person durchschnittlich 0,1—0,15 g Marksubstanz von 4—1-tägigen Marken. Diese Dose wurde in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und eingeimpft. Weil nun jeder Behandelte wenigstens 20mal geimpft wurde, so bekam jeder durchschnittlich wenigstens $2^1/_2$ g Marksubstanz. Die am Kopfe Gebissenen bekamen aber wenigstens 3 g, wahrscheinlich aber mehr, bis zu 4 g. Zur Orientierung sei hier bemerkt, daß das ganze frische Mark eines mittelgroßen Kaninchens (von z. B. 2500 g Gewicht) 4,4—4,5 g wiegt und daß es nach 2-tägiger Austrocknung über KOH in Zimmertemperatur die Hälfte dieses Gewichtes einbüßt.

Auf diese Weise impften wir also früher und auch im Jahre 1905 bis zum zweiten Todesfall anfangs April. Wie gesagt, haben wir auch nach diesem traurigen Fall an dieser Behandlung nichts geändert, im Gegenteil, wir sind mit der Zeit noch weiter gegangen.

Es erschienen nämlich anfangs Mai 1905 sehr viele Gebissene im Institute, so daß uns das ältere Mark ausging und wir schon von Anfang an nur 2- und 1-tägige Marke benutzen mußten. Weil uns die Resultate günstig vorkamen, impften wir auch nachher — obwohl kein Mangel an älteren Marken uns mehr zwang — nur mit 2—1-tägigen Marken. Dabei gebrauchten wir auch ebenso dichte Emulsionen wie früher.

Diese Art der Impfung nur mit 2—1-tägigen Marken dauerte also im Krakauer Institute von den ersten Tagen des Monats Mai 1905 bis zum Ende des Jahres 1905. Leider sind wir jedoch vor weiteren Todesfällen nicht verschont geblieben. Am 22. Juni kam in die Anstalt ein 45-jähriger Bauer F. W., welcher vor 4 Tagen (am 18. Juni) von einem wütenden Hunde (Kategorie B) schwer in die Hand gebissen wurde. Der Mann wurde 12 Tage mit 2—1-tägigen Marken behandelt und fuhr dann nach Hause zurück. Erst im Oktober erhielten wir die amtliche Nachricht, daß der arme Mann am 17. Juli, d. i. 13 Tage nach Beendigung der Kur und 29 Tage nach dem Bisse, an Wut gestorben ist. Wann die Krankheit ausgebrochen ist und unter welchen Symptomen sie verlief, konnten wir nicht erfahren. Das war also der dritte Todesfall an Wut im Jahre 1905 und wieder einer, welcher in die Hand gebissen war. Er war also auch relativ schwach behandelt.

Und so hatten wir bis Ende Oktober 1905 keinen einzigen von diesen Menschen verloren, welche am Kopfe gebissen, nach der energischen Methode behandelt waren. Und diese Methode war seit $1^1/_2$ Jahren bei uns gebraucht und gerade bei den am Kopfe Gebissenen am energischesten. Seit $1^1/_2$ Jahren betrafen auch alle Todesfälle an Wut in der Bujwidschen Anstalt nur Menschen, welche in die Hand gebissen waren; also die relativ schwach behandelten. Wir glaubten, aus dieser Tatsache schließen zu dürfen, daß wir uns auf rechtem Wege befinden und folglich die Behandlung der in die Hand Gebissenen verstärken sollen.

Bald sollte jedoch diese unsere Meinung erschüttert werden.

Am 4. November 1905 meldete sich in der Anstalt ein 7-jähriges Mädchen A. K. aus Krościenko. Sie wurde tags vorher von einem wütenden Hunde (Kategorie B) ins Gesicht und in die Hand gebissen. Wir konstatierten: Am oberen Augenlid des linken Auges sowie unter

dem linken Auge zwei ziemlich tiefe Wunden. Auf der Stirn einige oberflächliche Wunden, 4—6 cm lang, welche alle stark geblutet haben sollen und am nackten Körper beigebracht waren. Außerdem befanden sich am Rücken der linken Hand einige Hautrisse durch die Zähne des Hundes an der nackten Hand verursacht. Die Wunden waren nicht kauterisiert, nur antiseptisch verbunden.

Das Mädchen wurde bei uns bis zum 19. November energisch behandelt und ist an demselben Tage nach Hause abgereist. In den letzten Tagen des November erhielt jedoch Prof. Bujwid einen Brief aus Krościenko von Herrn Dr. Hammerschlag, welchen ich hier in wörtlicher Uebersetzung zitiere:

„Ich erlaube mir mitzuteilen, daß das 7-jährige Mädchen A. K., durch einen wütenden Hund gebissen und in der Anstalt des W. H. Professors behandelt, gestern starb nach einer kaum 1-tägigen Krankheit. Früh am 24. November bekam es auf einmal starke Kopfschmerzen mit Temperaturerhöhung und zwar ohne ein bemerkbares Vorläuferstadium. Ich konstatierte sofort 38° C Temperatur und einen fadenförmigen Puls von ca. 150. Paralyse der Muskeln des linken Augapfels (Strabismus convergens des linken Auges). Das Schlucken war vielleicht etwas erschwert, die Pupillen verengt und träge reagierend. Ich habe keine Krämpfe und Paralysen weder im Gesicht noch an den Extremitäten bemerkt. Im allgemeinen war das Krankheitsbild nicht typisch, es ist jedoch schwer, eine andere Krankheit anzunehmen und zu diagnostizieren (Mening. basil.). Das Kind soll um 8 Uhr abends gestorben sein."

Es starb also 5 Tage nach Beendigung der Kur und 22 Tage nach dem Bisse. Und so haben wir erlebt, daß auch eine im Gesicht gebissene Person trotz sehr energischer Behandlung gestorben ist. Das war auch der letzte Todesfall an Wut trotz der Behandlung in der Bujwidschen Anstalt im Jahre 1905.

Ich muß jedoch hier noch einen Fall erwähnen, welcher uns seiner Zeit auch sehr beunruhigt hat. Am 20. Juni 1905 kam in die Anstalt eine 58-jährige Frau R. G. aus Gorlice, welche von einem wütenden Hunde (Kategorie B) vor 3 Tagen in den Fuß gebissen worden war. Wir konstatierten: „Auf dem Fußrücken und auf der Plantarseite des rechten Fußes 5 kleine Wunden von unbekannter Tiefe. Ringsum eine ziemlich bedeutende Rötung, leichte Schwellung und Schmerzhaftigkeit. Es soll viel Blut abgegangen sein. Die Wunden waren durch das Schuhwerk erzeugt und waren vom Arzte mit Jodoform behandelt." Die Frau war ziemlich korpulent und deutlich cyanotisch (am Gesicht und Fingern). Sie war wie gewöhnlich 12 Tage behandelt. Die Wunden am Fuße wollten jedoch nicht heilen und waren am Ende der Kur in demselben Zustand wie am Anfang. Dieselben haben aber nicht besonders schlecht ausgesehen. So ist die Frau am 2. Juli abgereist. Nach etwa 2 Wochen kam in die Anstalt ein Verwandter von ihr und meldete, daß die Frau vor einigen Tagen (am 7. Juli) an „Blutvergiftung" gestorben ist. So hätten die Aerzte gesagt. — Wir haben auch bis jetzt keine amtliche Nachricht von ihrem Tode erhalten, was mit großer Wahrscheinlichkeit geschehen wäre, wenn sie an Wut gestorben wäre. Von den 4 zuerst besprochenen Fällen waren wir immer amtlich benachrichtigt worden. So haben wir uns auch entschlossen, diesen letzteren Fall nicht als Wut zu betrachten.

Wir verloren also von den im Jahre 1905 Geimpften 4 Personen auf rund 800 Behandelte, d. i. 0,5 Proz. 2 Personen von den Verstorbenen

erschienen sehr spät zur Behandlung. Wenn wir dieses Moment in Erwägung ziehen, so sahen wir im Jahre 1905 98 Menschen, welche erst am 10. Tage oder später nach dem Bisse zur Behandlung kamen. Von diesen starben 2, d. i. ca. 2 Proz. Dagegen meldeten sich 702 Menschen bis zum einschließlich 9. Tage nach dem Bisse in der Anstalt; von denen starben auch 2, d. i. 0,28 Proz. Wir sehen daraus, daß in Galizien noch sehr viel Zeit vergeht, ehe die Gebissenen zur Behandlung kommen; im Jahre 1905 ist jeder 8. Gebissene erst am 10. Tage oder später erschienen.

Von denen, welche am Kopfe oder im Gesicht gebissen waren, sind im Jahre 1905 44 Personen behandelt worden; von diesen starb eine. Aber auch im Jahre 1903 und 1904 waren durch rund 12 Monate einige 100 Leute nach der verstärkten Methode behandelt worden. Von diesen waren 41 Menschen am Kopfe gebissen.

Zusammen haben wir also nach der neuen Methode 85 Menschen behandelt, welche im Gesicht oder am Kopfe gebissen waren; von diesen starb 1, d. i. 1,18 Proz.

Dagegen waren in diesem Zeitraume 1339 (800+624—85) Menschen nicht am Kopfe gebissen und nach der energischen Methode behandelt. Von diesen starben 5 (eigentlich 4), d. i. 0,37 Proz.

Zusammen waren also unter 1424 nach meiner Methode behandelten Menschen 6 gestorben (eigentlich 5 ohne die alte K. G.), d. i. 0,42 Proz. (0,35 Proz.).

Dabei ist jedenfalls das Resultat sehr bemerkenswert, daß von den 5 Verstorbenen bei keinem einzigen die Krankheit später als 2 Wochen nach der Beendigung der Kur ausbrach. Und auch darin ist ein gewisser Fortschritt vielleicht nicht zufällig. So fing z. B. die Krankheit bei der im Jahre 1904 behandelten Z. K. erst 12 Tage nach Beendigung der Kur an und der Tod trat 17 Tage danach ein (nach 5-tägiger Krankheit). Die Z. K. war aber noch etwas schwächer behandelt als die im Jahre 1905 Gebissenen. Von diesen starb aber nur einer (F. W.) erst 13 Tage nach Beendigung der Kur; die 3 anderen starben schon nach 3—5 Tagen.

Es sieht natürlich dieser Fortschritt sehr verhängnisvoll aus, wo nach einer Art therapeutischer Behandlung die Menschen früher zu Grunde gehen als nach einer anderen. Wie bekannt, beruht jedoch die Wirkung der Pasteurschen Methode darin, daß dieselbe den Ausbruch dieser Wutfälle verhütet oder verhüten soll, wo die Krankheit ziemlich spät nach dem Bisse ausbricht; daß diese Methode aber ziemlich ohnmächtig ist gegen solche Fälle, welche binnen eines Monates nach dem Bisse ausbrechen. Die bei uns verstorbenen 5 Fälle betreffen alle Menschen, welche binnen eines Monates nach dem Bisse starben; sonst starb kein einziger Mensch, welcher die Kur gänzlich durchmachte.

Weiter ist es auch bekannt, daß nach dem in den Pasteurschen Anstalten üblichen Gebrauche nur diese Fälle der Statistik zur Last gerechnet werden, bei welchen die Wut später als 2 Wochen nach Beendigung der Kur ausbricht. Und dabei werden noch in vielen Anstalten die Gebissenen 3—4 Wochen behandelt. Bei uns aber dauerte die Kur nur 10—16 Tage. Wenn wir also die Statistik nach dem sonst üblichen Gebrauche berechnen würden, hätten wir keinen einzigen Todesfall auf mehr als 1400 Behandelte zu verzeichnen. Es ist mir keine Statistik in der Welt bekannt, welche so ein Resultat aufweisen könnte.

Ich glaube aber — wie dieses auch schon in der ersten Mitteilung besprochen wurde — daß diese Art der Statistik nur eine Selbsttäuschung bedeutet[1]). Den an Wut Verstorbenen und ihren Familien ist es schließlich beinahe gleichgültig, ob sie in 10 oder 30 Tagen nach Beendigung der Kur sterben; eines wissen sie nur, nämlich, daß sie trotz der Behandlung sterben. Und ich glaube, daß nur solche Fälle als unrettbar betrachtet werden sollten, wo die Krankheit spätestens 10 Tage nach Anfang der Kur ausbricht, und daß folglich nur solche Fälle in den Statistiken nicht berücksichtigt werden sollten.

Zur besseren Orientierung wurden die Todesfälle unserer Statistik, welche oben besprochen waren, in einer Tabelle zusammengestellt:

Tabelle VIII.

Nummer	Jahr	Name und Geschlecht der Gebissenen	Alter in Jahren	Das beißende Tier und seine Kategorie nach Pasteur	Lokalisation der Wunde	Am nackten Körper oder durch den Anzug	Die Behandlung der Wunde nach dem Bisse	Die Kur begann nach dem Unfall in Tagen	Die Kur dauerte Tage	Ausbruch der Krankh. in Tagen		Tod in Tagen		Bemerkungen
										nach dem Bisse	nach Beendigung der Kur	nach dem Bisse	nach Beendigung der Kur	
1	1904	K. G., ♀	65	Hund (?)	Hand	Am nackten Körper	Antisept. Verband	5	8	77	64	80	67	Sie verließ die Anstalt trotz Ermahnungen am 8. Tage der Behandlung. Sie bekam keine 1-tägigen Marke u. kann deshalb unserer Statistik nicht zur Last fallen
2	1904	Z. K., ♀	11	„ B	„	do.	Kauterisiert mit Höllenst.	3	9	24	12	29	17	
3	1905	W. S., ♂	11	„	„	do.	?	12	12	25	1	28	4	
4	1905	T. B., ♀	36	„ B	„	do.	?	16	12	28	0	31	3	
5	1905	F. W., ♂	45	„ „	„	do.	Antisept. Verband	4	12	?	?	29	13	
6	1905	A. K., ♀	7	„ „	Gesicht u. Hand	do.	do.	1	16	21	4	22	5	

Dieses Resultat zeigt, daß die Hoffnungen zu hoch gespannt waren, welche ich noch vor einem Jahre hegte, nämlich daß die Benützung von ganz frischen Marken die Statistik der Pasteurschen Anstalten bedeutend verbessern wird. Man kann schon jetzt behaupten, daß, wenn man auch mit ganz frischen Marken impfen würde, die Sterblichkeit doch nicht ganz schwinden wird; denn wenn wir auch ganz frische Marke nur sehr selten gebrauchten (vielleicht im ganzen 3—4mal), so haben wir doch seit Mai nur mit 2—1-tägigen Marken geimpft. Und die 1-tägigen Marken unterscheiden sich wenig im Grade der Austrock-

1) Als Beispiel kann die frisch publizierte Statistik der Anstalt zu Budapest dienen (Centralbl. f. Bakteriol. etc. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. p. 257). Der Verfasser (Dr. August v. Székely) zählt dort (vom Jahre 1890) 117 Verstorbene auf 24 883 Behandelte, obwohl außer diesen 117 noch 147 Menschen starben vor dem 15. Tage nach Beendigung oder während der 13—19 Tage dauernden Behandlung. Gleichzeitig lobt der Verfasser die Methode von Högyes, welche bekanntlich auf dem Impfen frischer, aber sehr verdünnter Marksubstanz beruht (Dilutionen von $^1/_{10\,000}$—$^1/_{100}$). Er berechnet, daß die Statistik dieser „Dilutionsmethode" seit dem Jahre 1895 nur 62 Tote auf 21 339 Behandelte (i. e. 0,29 Proz.) aufweist. Aber außer diesen 62 Personen starben gleichzeitig an Wut noch 116 Menschen vor dem 15. Tage nach Beendigung der Kur. In dieser Beleuchtung sieht diese Statistik viel schlimmer aus und ist eben ein Beispiel der Selbsttäuschung. Ich meine, daß man sich in Budapest die Arbeit mit sorgfältigem Verdünnen und genauem Dosieren des Impfmaterials ersparen könnte.

nung — folglich auch in der Virulenz — von den ganz frischen. Deshalb ist es wahrscheinlich, daß die Behandlung mit ganz frischen Marken kein viel besseres Resultat geben wird als das obige. Man muß andere Wege suchen: Wege, die schon von einigen Forschern betreten sind, nämlich die Kombination der Serum- und Virus fixe-Behandlung.

Diese Behandlungsweise bricht sich immer mehr Bahn und jedes Jahr vergrößert die Anzahl der damit gemachten Erfahrungen. Sehr bemerkenswert sind die Resultate, welche Babes auf diesem Gebiete erzielt hat[1]). Er bediente sich bei der Behandlung der Wolfsbisse zuerst einer weniger intensiven Pasteurschen Methode; dann schritt er zu einer viel intensiveren (zweite Periode seiner Erfahrungen). Er gab den Gebissenen schon am 2. oder 3. Tage der Kur 1-tägiges Mark, allerdings mit 12-tägigem beginnend (6—4 Injektionen täglich; die Behandlung dauerte 30 Tage, die letzten Tage wurde jedoch nur einmal täglich geimpft). „In manchen Fällen bekamen die Gebissenen am 3. oder am 4. Tage noch eine Injektion mit frischem Virus." Unter 116 so Behandelten hat er 19 verloren; von diesen trat die Wut bei 8 schon in der 3. Woche nach dem Bisse auf. Bei einem trat die Wut in der 5. Woche auf. Die 10 übrigen Todesfälle betrafen Personen, welche später als 10 Tage nach dem Bisse zur Behandlung kamen. Bei diesen trat die Wut nach dem 30. Tage nach dem Bisse auf.

Weil nun Babes mit dem Resultate dieser intensiven Anwendung der Pasteurschen Methode nicht zufrieden war, ging er zur Kombination derselben mit der Serumbehandlung über. Näheres darüber ist in seiner oben zitierten Arbeit zu lesen. Hier sollen nur die Resultate nach Babes wiederholt werden: „Hier (in der sechsten Periode seiner Erfahrungen) gingen wir schon am 1. oder am 2. Tage der Behandlung zu den virulentesten Substanzen über, welche noch außerdem mit reichlichen Mengen wirksamer chemischer Substanzen verstärkt wurden. Zugleich wurde Blutserum derart gegeben, daß dasselbe das fixe Virus nicht frei antreffe und auf das Straßenvirus wirken könne. Mittels dieser Behandlung hatten wir unter 16 Fällen keinen einzigen Mißerfolg (Erkrankung nach der 5. Woche), keine Erkrankung in der 5. Woche und bloß eine Erkrankung in der 3. Woche zu verzeichnen" (l. c. p. 200).

In der Bujwidschen Anstalt hatten wir aber auf 1400 nach der energischen Methode Behandelte und auf 5 Todesfälle keinen einzigen Fall, wo die Wut erst in der 5. Woche oder später nach dem Bisse ausgebrochen wäre, selbst bei denen nicht, welche erst nach 10 Tagen zur Behandlung kamen; nur in einem Falle trat die Wut am letzten Tage der 4. Woche auf (am 28. Tage). Dieser Vergleich berechtigt jedoch zu keinen Schlüssen, weil ja die Wolfsbisse ungemein gefährlicher sind als die anderen. Das eine ist nur klar, daß Babes die intensive Behandlung nach Pasteur nicht so wirksam fand, wie die Kombination dieser Methode mit der Serumbehandlung.

Bei dieser kombinierten Behandlungsweise soll noch ein Punkt besprochen werden. Soviel mir bekannt, gebrauchen alle Autoren, welche bis jetzt Experimente oder therapeutische Versuche mit dieser Methode gemacht haben, das fixe Virus vom Rückenmarke der Kaninchen, kombiniert mit hochwertigem Serum. Wie es mir jedoch anderenorts zu be-

---

1) Babes, V., Ueber die Behandlung von 300 von wütenden Wölfen gebissenen Personen im Bukarester pathologisch-bakteriologischen Institute. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVII. 1904. p. 179.)

weisen gelang[1], ist die Hirnrinde, wie überhaupt die graue Substanz des Gehirns, von frisch in ihren letzten Stunden getöteten Kaninchen etwa hundertmal virulenter als das Rückenmark. Wenn man also ein hochwertiges Serum in der Hand hat, so sollte man es nicht mit dem Marke kombinieren oder mischen, sondern mit grauer Substanz des Gehirns, denn es kann nicht gleichgültig sein, womit man es kombiniert. Wie bekannt, sind nach den modernen Anschauungen zur Erreichung einer aktiven Immunität virulente Bakterien viel wirksamer als schwach virulente. Obwohl also das Wutkontagium höchstwahrscheinlich keine Bakterie ist, so scheint es doch, daß obige Anschauungen auch auf dieses auszudehnen sind.

Obwohl ich einer der eifrigsten Anhänger der Meinung bin, daß das frische fixe Virus vom Rückenmarke, subkutan beim Menschen angewandt, unschädlich ist — so würde ich doch nicht wagen, einem Menschen frische graue Substanz des Gehirns subkutan einzuimpfen. Wenn man jedoch über hochwertiges Immunserum verfügt, so könnte man es wohl ohne Furcht tun und man kann auch hoffen, daß die Kombination, graue Substanz + Serum, uns bessere Dienste leisten wird, als die bisherigen Methoden. So werden wir wieder um einige Schritte dem Ideal näher kommen.

So wurde also die Behandlungsweise in der Bujwidschen Anstalt in den 3 letzten Jahren dargestellt, dann wurden die Todesfälle im Jahre 1905 ausführlich besprochen. Wie wir gesehen haben, ist die Statistik dieser energischen Impfungen nicht schlecht (auf mehr als 1400 Behandelte 0,35 Proz. Gestorbene), unter dem Standpunkte des 15-tägigen Ablasses nach Beendigung der Kur steht sie sogar einzig da in der Welt. Ich habe jedoch das Gefühl, daß darin ein sehr wichtiger Punkt noch kritisch beleuchtet und ausführlich besprochen werden muß. Es handelt sich darum, ob denn diese Impfungen den Behandelten nicht geschadet haben, ob sie hauptsächlich den Verstorbenen nicht geschadet haben, oder ob sie wenigstens den Ausbruch der Krankheit bei denselben nicht beschleunigt haben.

Was die erste Frage anbelangt, so soll gleich gesagt werden, daß wir bis heute keine einzige Nachricht von irgend einem nachteiligen Einflusse dieser Impfungen auf die Gesundheit der Behandelten erhalten haben. Und es sind seither schon 1—2 Jahre vergangen. Wie auch schon berichtet wurde, habe ich mir selber vor $2^1/_2$ Jahren ganz frisches Rückenmark von einem an Virus fixe krepierten Kaninchen eingeimpft ohne schlechte Folgen. Und es wurde den bei uns Behandelten nur 1-tägiges Mark eingespritzt. Was also diesen Punkt anbelangt, so kann man ganz beruhigt sein.

Es bleibt also die zweite Frage zu beantworten: Haben diese Impfungen den 5 Gestorbenen nicht geschadet? oder haben sie deren Tod nicht beschleunigt? Diese Fragen wurden natürlich bei uns lebhaft besprochen, besonders nach dem zweiten Todesfall im Jahre 1905. Herr Prof. Bujwid und Dr. Ph. Eisenberg traten damals mit der Möglichkeit hervor, daß es in manchen sehr schweren oder verspäteten Fällen durch die energischen Impfungen mit 2- und 1-tägigen Marken zu einer Anhäufung oder Kumulation der beiden Gifte (Straßen- und Virus fixe) kommen könne. Dadurch könne der Tod beschleunigt oder

1) Expériences sur la rage de laboratoire (Virus fixe). II, III, IV et Vme partie. (Bull. de l'acad. des sciences de Cracovie. 1904, 1905, 1906.)

sogar manchmal hervorgerufen werden. Diese Möglichkeit kann natürlich heutzutage nicht mit Sicherheit verneint werden, obwohl dieselbe auf keine Tatsachen gestützt ist und nur ein rein theoretisches Bedenken darstellt.

Um jedoch auf unsere zweite Frage zu antworten und auf die Zweifel, mit welchen Herr Prof. Bujwid und Dr. Eisenberg auftraten, ein wenig Licht zu werfen:

1) vergleichen wir unsere Statistik der energischen Impfmethode mit den Statistiken anderer Anstalten;

2) prüfen wir, ob solche Fälle frühen Todes nach Beendigung der Kur nicht auch in anderen Anstalten vorkamen, wo man doch dieselbe Methode viel milder gebrauchte.

Ad 1) Vergleichen wir die Resultate der energischen Impfungen mit den bisherigen Resultaten der Bujwidschen Anstalt, und zwar seit ihrer Begründung durch Prof. Bujwid im Jahre 1893 bis zur Einführung dieser verstärkten Methode. Dieser Vergleich ist selbstverständlich. Außerdem werden noch die Resultate der Pariser und der Warschauer Anstalt zum Vergleiche herangezogen. Dieselben wurden deshalb gewählt, weil sie sehr zahlreich besucht sind und in diesem Vergleiche nur hohe Ziffern maßgebend sein können. Außerdem ist die Anstalt in Paris der Hauptstamm für alle anderen Zweige gewesen und hoffentlich hat sich dort die Pasteursche Methode in ihrer reinsten Form erhalten. Die Warschauer Anstalt wieder — auch durch Prof. Bujwid im Jahre 1886 gegründet — arbeitet im allgemeinen unter denselben Verhältnissen wie die Krakauer.

Die Resultate sind in Tabelle IX zusammengestellt. Die Daten wurden denselben Quellen entnommen, welche auch zur Zusammenstellung der 4 ersten Tafeln (in der II. Mitteilung) gedient haben. Diese 4 Tafeln werden uns auch in dieser Mitteilung öfters nötig sein.

In Tabelle IX sind alle Todesfälle verzeichnet, in welchen die Krankheit später als 10 Tage nach Anfang der Behandlung ausbrach. Einmal deshalb, weil bei uns die Kur nur 10—16 Tage dauerte, und wir alle Todesfälle mitzählen — und zweitens deshalb, weil aus einigen Experimenten Pasteurs und Bardachs an Hunden gefolgert werden kann, daß nur solche Fälle unrettbar verloren sind, wo die Behandlung später als 7—10 Tage nach Eindringen des Straßenvirus in das zentrale Nervensystem begonnen wird[1]). Deshalb ist in der Tabelle natürlich die Sterblichkeit höher, als die Leiter der betreffenden Institute angeben; deshalb konnte auch die Statistik der Pariser Anstalt nur bis zum Jahre 1897 verwertet werden, weil für das Jahr 1896 nicht angegeben ist, ob und wieviel Menschen früher als 15 Tage nach Beendigung der Kur starben.

Die Warschauer Anstalt berichtet auch über Todesfälle nach Wolfsbissen. Diese wurden in dieser Zusammenstellung nicht mitgezählt — und überhaupt wurden Personen, welche nach Wolfsbissen behandelt waren, nicht berücksichtigt (s. Tabelle IX).

Aus dieser Tabelle sehen wir also, daß die Resultate der energischen Impfungen nicht schlechter sind, als die Resultate der gewöhnlichen Impfmethode. Man kann sogar sagen, daß sie etwas besser sind; sie zeigen 0,42 Proz. Todesfälle. Dagegen zeigt die Pariser Anstalt 0,56 Proz.,

1) Lettre de M. Pasteur sur la rage. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1887. p. 6.) — Bardach, Sur la vaccination intensive etc. (Ibid. p. 84.)

Tabelle IX.

Ort und die gebrauchte Methode	Jahr	Zahl der behandelten Menschen	Zahl der an Wut trotz Behandlung Gestorbenen	Proz. dieser Gestorbenen	Zusammen	Bemerkungen
Paris, gewöhnliche Pasteursche Methode etwa 18 Tage (3 Wochen?)	1897	1521	8	0,53	9834 Behandelte, 55 Tote, d. i. 0,56 Proz.	
	1898	1465	6	0,41		
	1899	1614	10	0,62		
	1900	1420	11	0,77		
	1901	1321	8	0,60		
	1902	1106	3	0,27		
	1903	630	4	0,63		
	1904	757	5	0,66		
Warschau, do. 3–4 Wochen	1895	667	3	0,45	9894 Behandelte, 47 Tote, d. i. 0,475 Proz.	
	1896	915	4	0,44		
	1897	924	5	0,54		
	1898	951	5	0,53		
	1899	917	4	0,44		
	1900	909	8	0,88		
	1901	1150	6	0,52		
	1902	1161	6	0,52		
	1903	1230	3	0,24		Die Statistik dieser Anstalt im Jahre 1903 u. 1904 wird noch weiter unten besprochen
	1904	1070	3	0,28		
Krakau, do. jedoch nur 8–14 Tage (größtenteils 10 Tage)	1893-1895	143	2	1,40	3141 Behandelte, 33 Tote, d. i. 1,05 Proz.	Die ungünstige Statistik der Krakauer Anstalt im Vergleich mit den Statistiken aus Paris und Warschau kann nur durch die bedeutend kürzere Behandlungsdauer erklärt werden. Im Mittel dauert die Kur in der Bujwidschen Anstalt 2mal kürzer als in anderen Anstalten
	1896	146	0	0		
	1897	160	4	2,50		
	1898	277	3	1,08		
	1899	320	2	0,60		
	1900	400	5	1,25		
	1901	647	2	0,31		
	1902	500	9	1,80		
	1903-1904	548	6	1,09		
Krakau, energische Methode 10–16 Tage	1903-1904	624	2	0,32	1424 Behandelte, 6 Tote, d. i. 0,42 Proz., eigentlich nur 5 Tote, d. i. 0,35 Proz.	
	1905	800	4	0,50		

die Warschauer 0,475 Proz., die Krakauer 1,05 Proz. Wenn wir die Statistiken für jedes Jahr gesondert mit unserer Statistik vergleichen, so sehen wir, daß das Resultat 0,42 Proz. Tote in der Pariser Anstalt auf 8 Jahre nur 2mal besser war; in der Warschauer Anstalt auf 10 Jahre auch nur 2mal; in der Krakauer Anstalt endlich auf 9 Jahre auch nur 2mal.

Im allgemeinen ist das Resultat mehr als 2mal besser, als das bisherige Resultat in der Krakauer Anstalt, was deshalb wichtig ist, weil die Behandlungsdauer in dieser Anstalt nur 10—16 Tage nach der alten und nach der neuen Methode dauerte.

Dabei sei noch einmal bemerkt, daß wir eigentlich das Recht hätten, im Zeitraume 1903—1904 nur einen Toten zu rechnen, zusammen also nur

5 — wie es schon oben besprochen wurde. Aus allem scheint mir dieser Schluß berechtigt: Die energische Impfmethode zeigt eine etwas bessere Statistik als die bisher übliche.

Es muß noch darauf hingewiesen werden, daß die Resultate der Warschauer Anstalt für die Jahre 1903 und 1904 sehr bemerkenswert sind. Wir finden dort nur 0,24 und 0,28 Proz. Todesfälle verzeichnet; dies ist ein Resultat, wie solches — meines Wissens nach — in kaum einer Anstalt sonst in der Welt erreicht wurde. Die Impfmethode und die Behandlungsdauer ist dieselbe geblieben, wie in den vorigen Jahren, nur die Statistik ist mehr als 2mal besser. Das Jahr 1904 war, wie bekannt, ein Kriegsjahr und ein Jahr fortwährender Unruhen; sehr viele Aerzte sind aus Russisch-Polen nach dem fernen Osten berufen worden; vielleicht hat also die Anstalt in Warschau vom einen oder anderen Todesfall an Wut keine Nachricht bekommen. Diese Erklärung ist natürlich für das Jahr 1903 schwerer annehmbar.

Wenden wir uns jetzt der Besprechung des zweiten Punktes zu. Wenn nämlich die Statistik im allgemeinen für die energischen Impfungen etwas besser ist als für die gewöhnlichen, so könnten dieselben doch noch deshalb schädlich wirken, daß sie den tödlichen Ausgang in manchen verzweifelten Fällen beschleunigen. Vergleichen wir von diesem Standpunkte aus unsere Statistik mit den Resultaten der schon oben zum Vergleiche herangezogenen Anstalten. Senden wir jedoch diesem Vergleiche noch einige Bemerkungen darüber voraus, wie man diese Statistik vergleichen muß.

Man könnte nämlich die Zahl der nach der Behandlung überhaupt Gestorbenen berechnen und dann z. B. in Prozenten bestimmen, bei wie vielen von diesen die Wut spätestens 15 Tage nach Beendigung der Kur ausbrach. Dann müßten wir bei der energischen Methode solcher 100 Proz. berechnen, weil wir ja eigentlich keinen einzigen Fall gehabt haben, wo die Krankheit später wie 15 Tage nach Beendigung der Kur ausgebrochen wäre. Daraus müßte man den Schluß ziehen, daß diese Methode absolut zu verwerfen sei, weil sie den tödlichen Ausgang beschleunigt. Dieser Schluß wäre jedoch unberechtigt, weil wir es eben als einen Vorteil dieser Methode und als Fortschritt betrachten müssen, daß dieselbe die späten Wutausbrüche unmöglich macht und nur in den frühen im Stiche läßt.

Dann könnte man aus der Zahl der überhaupt Behandelten die Zahl derer in Prozenten berechnen, bei welchen die Wut spätestens 15 Tage nach Beendigung der Kur ausbrach. Dieses wäre schon viel gerechter (nach meiner Ansicht). Jedoch wir werden auch diesen Weg nicht einschlagen, weil die Behandlungsdauer in verschiedenen Anstalten von 10—31 Tagen dauerte; auch ist in den Statistiken in vielen Fällen nicht angegeben, wann die Wut ausbrach — dagegen ist der Sterbetag beinahe immer ausdrücklich bestimmt.

Wir werden also aus der Zahl der überhaupt Behandelten die Zahl derer in Prozenten bestimmen, welche binnen einem Monate (31 Tage) nach dem Bisse gestorben sind, wenn sie vor dem Auftreten der Wutsymptome mindestens 9 Tage behandelt wurden.

In Tabelle VIII (p. 277) sehen wir, daß unter 5 Personen, welche nach der energischen Methode bei uns behandelt waren, alle diesen Bedingungen entsprechen. Ich wähle also die für die energische Methode ungünstigsten Bedingungen.

Diese Art des Vorgehens läßt uns auch die gar nicht Behan-

delten berücksichtigen, um zu sehen, ob auch bei solchen Fälle des Wuttodes binnen eines Monates nach dem Bisse nicht vorkommen. Aus der neueren Literatur (etwa vom Jahre 1890 an) wurden 100 Fälle gesammelt, wo nicht behandelte Personen an Wut zu Grunde gingen (siehe Tabelle IV, II. Mitteilung).

Die Resultate dieses Vergleiches zeigt Tabelle X. Die Wolfsbisse sind ausgeschlossen; der Zeitraum ist derselbe wie in Tabelle IX.

Tabelle X.

Ort und Zeitraum	Die angewandte Pasteursche Methode	Zahl der Behandelten	Die Zahl der spätestens 31 Tage nach dem Bisse Gestorbenen und welche auch sonst den oben besprochenen Bedingungen entsprechen	Dieselbe Zahl, in Prozenten der Behandelten ausgedrückt	Bemerkungen
Paris 1897—1904	Gewöhnliche 14—21 Tage	9834	19	0,19 Proz.	Außerdem starb noch im Jahre 1900 eine Person 28 Tage nach dem Bisse, diese habe ich jedoch nicht berücksichtigt, weil die Symptome schon am 2. Tage der Behandlung auftraten
Warschau 1895—1904	Gewöhnliche 12—30 Tage 2—3mal tägl.	9894	15	0,15 Proz.	Außerdem weiß man von 2 Personen (im Jahre 1900 und 1901) nicht, wann sie starben
Krakau 1893—1904	Gewöhnliche 10—14 Tage 2—3mal tägl.	3141	9	0,29 Proz.	Außerdem starb im Jahre 1902 eine Person 24 Tage nach dem Bisse (nach 6-tägiger Krankheit) — dieselbe wurde nicht berücksichtigt, weil die ersten Symptome schon am 5. Behandlungstage auftraten
Krakau 1903—1905	Energische (verstärkte) 10—16 Tage	1424	5	0,35 Proz.	

Aus dieser Tabelle sehen wir, daß die Resultate der energischen Impfungen schlechter sind, als diejenigen der gewöhnlichen Impfungen. Die Statistiken der Pariser und der Warschauer Anstalt sind ca. 2mal besser — auch die Krakauer Anstalt zeigt ein ausdrücklich besseres Resultat. Die Verhältnisse sind hier gerade umgekehrt, wie in Tabelle IX. Dort haben die energischen Impfungen das beste Resultat aufgewiesen; hier das schlechteste.

Zur Verteidigung kann ich nur anführen, daß die Zahl der energisch behandelten Personen viel kleiner ist als die andere. Aus dem Studium der betreffenden Statistiken kann man den Eindruck gewinnen, daß sich solche frühe Todesfälle in manchen Jahren häufen (siehe Tabellen I—III, II. Mitteilung). So sind z. B. in der Pariser Anstalt

im Jahre 1899 auf 1614 Behandelte 5 bis zum 31. Tage nach dem Bisse gestorben (0,31 Proz.),

im Jahre 1903 auf 630 Behandelte 2 (0,32 Proz.)[1];

1) Wahrscheinlich; es ist nämlich einmal das Datum des Bisses nicht angegeben

in der Warschauer Anstalt:
im Jahre 1902 auf 1161 Behandelte 5 (0,43 Proz.);
in der Krakauer Anstalt:
im Jahre 1898 auf 277 Behandelte 2 (0,72 Proz.),
im Jahre 1902 auf 500 Behandelte 3 (0,60 Proz.). Außerdem starben in demselben Jahre von den Behandelten einer in 32 Tagen, ein anderer in 33 Tagen und ein dritter in 24 Tagen nach dem Bisse (bei diesem letzteren trat die Wut am 5. Tage der Behandlung auf, deshalb konnte er auch in unseren Statistiken nicht berücksichtigt werden).

Aus dieser Zusammenstellung sehen wir, daß dieses unser schlechtes Resultat (0,35 Proz. Tote in Tabelle X) in manchen Jahren von der Pariser Anstalt beinahe erreicht wurde (0,31, 0,32 Proz.), in der Warschauer Anstalt einmal noch schlechter war (0,43 Proz.) und in der Krakauer Anstalt zweimal sogar ganz bedeutend schlechter sich zeigte (0,72 und 0,60 Proz.).

Dazwischen kommen wieder Jahre, wo solche Fälle des frühen Todes höchst selten sind. So starb z. B. in Paris
im Jahre 1902 auf 1106 Behandelte nur einer vor 31 Tagen nach dem Bisse (0,09 Proz.),
in Warschau
im Jahre 1896 auf 915 Behandelte keiner
" " 1903 " 1230 " "

Es ist bekannt, daß auch nicht behandelte Personen manchmal binnen eines Monates nach dem Bisse starben. In der Statistik Bauers — welche schon in der II. Mitteilung besprochen wurde — ist berechnet, daß von solchen Menschen sogar 8,24 Proz. binnen 19 Tagen nach dem Bisse sterben! Natürlich ist dort die Zahl derjenigen, welche bis zum 31. Tage sterben, viel höher. Diese Berechnung Bauers ist jedoch — nach dem heutigen Stande unseres Wissens — etwas zu hoch.

In der II. Mitteilung (Tabelle IV) wurden aus neueren Angaben 100 Todesfälle an Wut bei nicht behandelten Personen gesammelt (Todesfälle nach Wolfsbissen waren dabei ausgeschlossen). Von diesen 100 Personen starben 11 bis zum 31. Tage nach dem Bisse (vielleicht 12). Einer starb nach 19, andere nach 20, 21, 23 u. s. w. Tagen nach dem Bisse.

Ich zitiere dieses bloß, um zu beweisen, daß solche Fälle des frühen Todes auch bei gar nicht behandelten Personen vorkommen, daß man also kein Recht hat, zu sagen, daß in allen solchen Fällen die Behandlung daran schuld ist.

Aus Tabelle VIII sehen wir, daß unter den 5 Personen, welche nach unseren Impfungen starben, 4 zwischen dem 28.—31. Tage nach dem Bisse zu Grunde gingen. Dieses kommt verhältnismäßig ziemlich oft vor. Größtenteils solche Fälle sind ja in Tabelle X zusammengestellt. Jedoch die 5. Person starb schon nach 22 Tagen und weil sie sehr energisch durch 16 Tage geimpft wurde, so fragt es sich, ob wenigstens dieser eine Fall nicht durch die Methode verschuldet ist. Es wurde schon oben gezeigt, daß auch gar nicht behandelte Menschen

---

(bei J. D'H.); er war 14 Tage behandelt und starb 11 Tage nach Beendigung der Kur.

1) Münch. med. Wochenschr. 1886.

in so kurzer Zeit sterben können (bei Wolfsbissen kommt dieses viel öfter vor). Außerdem haben wir auch in den Statistiken der oben oft zitierten Anstalten nach solchen Fällen gesucht. Wir fanden in der Pariser Anstalt im Jahre 1898 einen Fall (nach 21 Tagen), im Jahre 1900 einen zweiten Fall (nach 22 Tagen), im Jahre 1903 einen dritten Fall (sogar nach 16 Tagen), also auf 9834 Behandelte 3 Fälle; in der Warschauer Anstalt im Jahre 1897 einen Fall (nach 21 Tagen), sonst keinen mehr, d. h. auf 9894 Behandelte einen Fall; in der Krakauer Anstalt auf 3141 Behandelte keinen Fall. Zusammen also vier Fälle auf 22 869 Behandelte, d. h. auf 5717 Behandelte kommt einmal vor, daß der Tod bis zum 22. Tage nach dem Bisse eintritt. Dagegen zeigt die Statistik der energischen Impfungen einen solchen Fall auf nur 1424 Behandelte.

Dieser Tatsache gegenüber kann nur das wiederholt werden, was schon einmal oben gesagt wurde, nämlich daß die Zahl der energisch behandelten Personen noch zu klein ist. Außerdem ist in diesem Falle die ungewöhnlich schwere Verletzung am Auge zu berücksichtigen, wo wahrscheinlich die Nerven in der Umgebung der Orbita verletzt wurden. Es ist auch sehr wichtig in diesem Falle, daß gleich beim Anfange der Krankheit ein „Strabismus" am verletzten Auge auftrat. Prof. Bujwid richtete darauf unsere Aufmerksamkeit. Dieser Strabismus schien gerade unmittelbar auf die wirkliche Ursache des Todes hinzuweisen.

Es sei mir gestattet, noch eines zu besprechen. Von den 5 bei uns Gestorbenen starben 2 in 13 und 17 Tagen nach Beendigung der Kur. Dieses kommt auch wo anders verhältnismäßig oft vor und jeder Leiter einer größeren Pasteurschen Anstalt wird solche Fälle erlebt haben. Aber die 3 anderen starben schon nach 3 und nach 5 Tagen nach Beendigung der Kur (siehe Tabelle VIII) und die Krankheit brach bei 2 von ihnen knapp nach Verlassen der Anstalt aus. Diese Fälle machen gerade einen alarmierenden Eindruck und dieselben mußten auch das Vertrauen bedeutend einschränken, mit welchem man bei uns die energische Methode gebrauchte. Betreten wir jedoch auch hier den gewöhnlichen Weg und suchen wir auch in anderen Anstalten nach ähnlichen Fällen. Beschränken wir uns darin auf die obigen 3 Anstalten.

Wir finden in der Pariser Anstalt (vom Jahre 1897) beinahe jedes Jahr solche Fälle verzeichnet (mit Ausnahme des Jahres 1903), zusammen auf 55 Gestorbene (Tabellen I und IX) 14 Fälle, wo der Tod spätestens 4 Tage nach Beendigung der Kur eintrat. Bei einigen von denen trat er während der Behandlung ein, nachdem dieselbe schon 13, 15 oder 18 Tage gedauert hatte.

In der Warschauer Anstalt (vom Jahre 1895) finden wir auf 47 Tote (Tabellen II und IX) 9 Fälle, wo der Tod entweder während einer schon länger dauernden Behandlung oder bis spätestens in 3 Tagen nach Beendigung derselben eintrat. Die Warschauer Statistik ist aber deshalb bemerkenswert, weil dort solche Fälle nur während 4 Jahren (auf 10) vorkommen, nämlich in den Jahren 1900, 1901, 1902 und 1904. Allein im Jahre 1902 finden wir 5 Fälle verzeichnet, wo der Tod während der Behandlung eintrat, nachdem dieselbe schon 19—24 Tage gedauert hatte. Alle diese 5 Fälle betreffen Menschen, welche binnen eines Monates nach dem Bisse eingegangen sind. Merkwürdigerweise erklären sich Palmirski und Karłowski diese Anhäufung der frühen Todesfälle in diesem Jahre dadurch, daß sie zu wenig energisch vorgingen und die Impfungen mit 3-tägigen Marken endigten. Sie gebrauchten

im Jahre 1902 keine 2- und 1-tägigen Marke. Weiter schreiben sie[1]): „Indem wir heuer (1903) die stärksten Marke (2- und 1-tägige) bei den am gefährlichsten gebissenen Personen gebrauchen, haben wir bis jetzt vollkommen zufriedenstellende Resultate.“

Es ist belehrend, daß diese Autoren die beunruhigende Anhäufung der frühen Todesfälle im Jahre 1902 einer zu milden Behandlung zuschreiben; dagegen war ich geneigt, ebenso eine Anhäufung der frühen Todesfälle im Jahre 1905 bei uns einer zu energischen Behandlung zuzuschreiben. Nach meinen bisherigen Erfahrungen glaube ich, daß Palmirski und Karłowski diese 5 Fälle wahrscheinlich auch durch Anwendung 2- und 1-tägiger Marke nicht gerettet hätten.

Kehren wir aber zu unserem Thema zurück.

Weiter findet sich merkwürdigerweise in der Krakauer Anstalt (vom Jahre 1893) kein einziger Fall verzeichnet, wo der Tod früher als 10 Tage nach Beendigung der Kur eingetreten wäre. Desto peinlicher waren deshalb auch diese 3 Fälle des Jahres 1905 nach den energischen Impfungen.

Zusammen also finden sich auf 22869 Behandelte 23 Todesfälle bis zu 5 Tagen nach Beendigung der Kur, d. h. 0,10 Proz. Dagegen zeigt die Statistik unserer energischen Impfungen 3 solche Fälle auf 1424 Behandelte, d. i. 0,21 Proz., also wieder ein ungünstigeres Resultat. Auch diesem gegenüber kann nur auf das schon oben Gesagte verwiesen werden.

Die oben so ausführlich besprochene energische Methode dauerte bei uns bis Ende des Jahres 1905. Seit dem 1. Januar 1906 hat Herr Prof. Bujwid in seiner Anstalt die Impfungen selber übernommen. Er ist dabei wieder zur alten Methode zurückgekehrt (jedoch etwas modifiziert). Er gebraucht seit Anfang keine 1-tägigen Marke und endigt die Behandlung mit 2-tägigen. Er fängt aber mit 5-tägigen Marken an, impft also nur mit 5 – 2-tägigen. Wahrscheinlich wird Prof. Bujwid seinerzeit die Resultate publizieren. Obwohl also Prof. Bujwid jetzt viel milder impft — er gebraucht auch viel dünnere Emulsionen — so hat er doch im Februar 1906 einen Fall erlebt, wo ein im Gesicht Gebissener und 16 Tage Behandelter in einigen Tagen nach Beendigung der Kur starb — etwa 25 Tage nach dem Bisse. Wahrscheinlich hätte diesen Menschen auch die energische Behandlungsmethode nicht gerettet; aber in Verbindung mit dem oben Besprochenen hat uns dieser Fall in der Meinung verstärkt, daß auch die frühen Todesfälle nach der energischen Methode nicht diese Methode verschuldet hat[2]).

Und so kommen wir zu Ende unserer Betrachtungen. Die energische Behandlungsweise wurde ganz so dargestellt, wie sie geübt war; nichts wurde verschönert und nichts verschleiert. Dann trachtete ich, alle die Zweifel und Befürchtungen, welche wir während dieser Behandlung durchlebten, zu schildern. Die Mängel der Methode wurden statistisch beleuchtet. Wie wir sahen, ist diese fundamentale Frage, ob denn diese Methode nicht einigen von den Gestorbenen geschadet hat, nicht mit Bestimmtheit zu verneinen. Ich meine, daß diese Frage überhaupt heutzutage nicht mit Bestimmtheit gelöst werden kann. Andererseits glaube ich jedoch, daß diese Methode entschieden auch von Nutzen ist. Das sehe ich in der gänzlichen Eliminierung der Erkrankungsfälle später

---

1) Medycyna. 1903. p. 1108. [Polnisch.]
2) Herrn Prof. Bujwid danke ich für die Erlaubnis der Erwähnung dieses Falles.

als 15 Tage nach Beendigung der Kur. Das ist doch ein Resultat, welches bisher noch nie erreicht wurde. Und damit hängt auch der zweite Nutzen zusammen, nämlich die erwiesene Möglichkeit der Verkürzung der Behandlungsdauer. Darüber habe ich schon in meiner I. Mitteilung geschrieben. Aber durch die Impfungen im Jahre 1905 glaube ich erwiesen zu haben, daß die Möglichkeit geradezu ein Postulat ist. Zunächst ist vollkommen sicher, daß bei der energischen Behandlungsmethode die Bujwidsche Behandlungsdauer von 10 16 Tagen ganz ausreicht. Es ist daher nicht angängig, die Gebissenen 20—30 Tage zu kurieren, wie es noch gewöhnlich geschieht. Aber auch diese Bujwidsche Behandlungsdauer scheint mir zu lang zu sein. Wenn ich in der Lage wäre, möchte ich sie zunächst auf 8—14 Tage verkürzen und ich möchte jedes halbe Jahr um einen Tag die Behandlungsdauer abkürzen — immer energisch und 2mal täglich impfend — bis wieder verspätete Erkrankungsfälle auftreten. Denn diese verspäteten Erkrankungsfälle nach der Kur sind es eben, die uns zeigen, daß die Kur zu schwach war, daß man den Gebissenen ungenügend immunisiert hat. Das wäre nun mein Plan der Behandlung. Gleichzeitig müßte man natürlich trachten, ein hochwertiges Serum zu bekommen, um auch den Todesfällen binnen des ersten Monates nach dem Bisse vorbeugen zu können. Ich bin der festen Ueberzeugung, daß, wenn man diese beiden Erfordernisse vereinigen würde, auch die Bujwidsche Behandlungsdauer ganz erheblich und mit sehr gutem Erfolge verkürzt werden könnte.

Schließlich erfülle ich die angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Bujwid für die Erlaubnis zu danken, welche uns ermöglicht hat, durch längere Zeit in seiner Anstalt nach einem neuen Plane die Behandlung zu führen.

Krakau, 8. Juli 1906.

Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichschen Fixationsmethode.

[Aus dem Institut für Hygiene u. Bakteriologie der Universität Straßburg.]

Von Dr. med. **Albert Hamm**, I. Assistent des Instituts.

Mit 1 Tafel und 4 Textfiguren.

Ueberblickt man die verschiedenen in der Literatur über Bakterienkapseln mitgeteilten Beobachtungen, so kann einem die Tatsache nicht entgehen, daß die Angaben über die Morphologie und das Wesen dieser eigentümlichen Zellgebilde vielfach recht unbestimmt sind und nicht selten sich direkt widersprechen.

Während den meisten Autoren der deutliche Nachweis einer Kapsel nur bei einigen wenigen Bakterien, und auch da wiederum fast ausschließlich bei deren Wachstum im tierischen Organismus gelungen ist, hat Boni[1] neuerdings eine Methode angegeben, mittels deren er bei fast sämtlichen Bakterienarten, selbst wenn sie auf den gewöhnlichen künstlichen Nährböden gezüchtet waren, eine „Kapsel" zur Darstellung

---

1) Boni, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXVIII. 1900. p. 705.

bringen konnte. Buerger[1]) will die Kapsel nach außen hin durch eine besondere „Kapselmembran" scharf abgegrenzt wissen; hingegen läßt Hinterberger[2]) die einzelnen Kapselbacillen durch eine netzartig angeordnete Intercellularsubstanz verbunden sein. Babes[3]) endlich glaubt die Kapselbildung auf ungünstige Lebensbedingungen der betreffenden Bakterien zurückführen zu können, Migula[4]) faßt sie auf als „einfache Reaktion der Zelle auf gewisse äußere Einwirkungen, die durchaus nicht zu den für die Zelle ungünstigen zu gehören brauchen", Heim[5]) erblickt darin eine Schutzvorrichtung gegen die Auflösung der Bacillen durch die tierischen Säfte.

Bei einem derartigen Auseinandergehen der Ansichten mußte sich einem der Gedanke aufdrängen, ob nicht die Verschiedenheit der Beobachtungsresultate bedingt sei durch eine differente Untersuchungsmethodik. Es handelt sich bei den Bakterienkapseln bekanntlich um sehr wasserreiche, äußerst fragile Zellgebilde. Will man daher einwandsfreie Objekte erhalten, so muß man vor allem darauf bedacht sein, die Kapsel durch eine schonende und doch zuverlässige Fixationsmethode möglichst in ihrem natürlichen Zustande zu erhalten.

Da dieser wichtige Punkt bei den meisten bisherigen Autoren nicht oder nur ungenügend berücksichtigt wurde und ein vollkommen einwandsfreies Fixationsverfahren uns vordem eigentlich nicht zu Gebote stand, entschloß ich mich auf Anregung der Herren Professoren J. Forster und E. Levy, die zur Erhaltung der geformten Blutelemente so Ausgezeichnetes leistende Fixationsmethode nach Professor F. Weidenreich[6]) auch auf die Bakterien anzuwenden und zu sehen, ob dadurch vielleicht neue Anhaltspunkte gewonnen würden, die zur Klärung jener alten Streitfragen beitragen könnten.

Zunächst einige Worte über die Methode selbst. Sie ist in ihrer ursprünglichen Form schon vor einigen Monaten durch Herrn Dr. Kayser[7]) in dieser Zeitschrift beschrieben und gewürdigt worden, später haben Hofmann und Halle[8]), sowie Herr Dr. Forest[9]) auf deren Vorzüge für die Darstellung der *Spirochaete pallida* im Gewebsausstrich hingewiesen.

Durch vielfache Kontrollversuche bin ich indessen im Laufe der Monate zu der Ueberzeugung gelangt, daß wir jene im Vergleich zur Trockenfixation vielleicht etwas umständlich erscheinende Methode noch wesentlich vereinfachen können: für unsere bakteriologischen Zwecke ist es im allgemeinen vollkommen hinreichend, wenn wir uns das Hauptprinzip des Weidenreichschen Verfahrens, die kurze Einwirkung von Osmiumsäuredämpfen auf das in seinem ursprünglichen Feuchtigkeitszustande erhaltene Objekt zu nutze machen.

Was zunächst die Fixationsflüssigkeit selbst angeht, so wird ein Zusatz von Eisessig zur Osmiumtetroxydlösung, da er lediglich den Zweck hat, durch Fällung der Nukleine und Nukleinsäure eine intensive Kernfärbung zu erzielen, bei der hervorragenden Affinität der Bakterien

1) Buerger, ibid. Bd. XXXIX. 1905. p. 216.
2) Hinterberger, ibid. Bd. XXX. 1901. p. 417.
3) Babes, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XX. 1895. p. 412.
4) Migula, System der Bakterien. Bd. I. 1897. p. 59.
5) Heim, Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 426—428.
6) Weidenreich, Folia haematologica. Vol. III. 1906. p. 1.
7) Kayser, H., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 138.
8) Hofmann und Halle, Münch. med. Wochenschr. Bd. LIII. 1906. p. 1516.
9) Forest, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. p. 608.

zu den basischen Anilinfarbstoffen von vornherein schon überflüssig erscheinen; und in der Tat konnte ich damit durchaus keine besseren Resultate erzielen als mit reiner Osmiumsäurelösung, um so weniger, als bei etwas zu starker Einwirkung der Essigsäuredämpfe sehr leicht eine unangenehme Verdunkelung der Präparate eintritt, die besonders bei Ausstrichpräparaten von Kultur in Ascites oder Blutserum recht störend wirkt. Hingegen wird man natürlich den Essigsäurezusatz überall da beibehalten, wo man tierische Zellen (Blut, Malariaplasmodien, Trypanosomen etc.) zu fixieren hat.

Ebenso hat sich mir das Abspülen des fixierten Präparates mit wässeriger Lösung von Kalium hypermanganicum zur Entfernung der überschüssigen Osmiumsäure als unnötig erwiesen, wenn man nur darauf achtet, daß die Präparate den Osmiumdämpfen nicht länger als 30—40 Sekunden ausgesetzt bleiben. Diese Einwirkungsdauer ist zu einer zuverlässigen Fixation schon durchaus hinreichend — nach Prof. Weidenreichs Untersuchungen wird die Form der roten Blutkörperchen schon in 5 Sekunden fixiert! — und bietet den großen Vorteil, daß dabei von der gefürchteten Beeinträchtigung der Färbbarkeit durch die Osmiumsäure absolut nichts zu merken ist. Die nachträgliche Applikation von Kaliumpermanganatlösung kann daher für unsere Zwecke ruhig wegfallen, besonders auch, weil sie speziell im Kulturausstrich gerne die fatale Nebenwirkung besitzt, nicht nur die Osmiumsäure, sondern das ganze fixierte Material vom Objektträger abzuspülen.

Endlich muß darauf hingewiesen werden, daß die Vorbehandlung des zu belegenden Glases mit Osmiumdämpfen nur dann Zweck hat, wenn das Untersuchungsmaterial (Blut) sofort darauf ausgestrichen und fixiert werden kann. Muß aber erst eine Verteilung und Verdünnung des Materials auf dem Deckglase selbst erzielt werden, wie es für Mikroorganismen aus künstlichen Nährböden doch fast immer der Fall ist, so dürfte es rationeller sein, von einer Osmierung des unbelegten Objektträgers abzusehen.

Als Behälter für die Osmiumdämpfe bewährten sich mir zwei Instrumente, deren Beschreibung mir hier kurz gestattet sei. Will man mehrere Deckgläschen gleichzeitig fixieren, z. B. bei der Vorbereitung von Präparaten für Kurszwecke, so bedient man sich zweckmäßig der von Herrn Prof. E. Levy modifizierten Petrischen Doppelschale, wie sie im hiesigen Institut seit Jahren zur Herstellung haltbarer Blutserumplatten verwandt wird[1]). Diese Schale hat den Vorzug, daß sie fast doppelt so hoch ist als die gewöhnliche Petri-Schale und daß die Seitenränder so aufeinander abgepaßt sind, daß sie durch einen umgelegten Gummiring luftdicht abgeschlossen werden können. Für unseren Zweck wird die Oeffnung im Deckel der Schale anstatt mit Watte durch einen Gummistöpsel verschlossen. Auf den Boden der Schale kommt ein aus einem umgebogenen Glasstabe hergestelltes Quadrat zu liegen, über das in parallelen Zügen Platindraht gespannt ist. Da die Präparate mit der belegten Seite auf den Draht zu liegen kommen, muß dieser zur Vermeidung von Verunreinigungen nach dem Gebrauche jedesmal ausgeglüht werden. 5 ccm einer 1-proz. Osmiumsäurelösung auf den Boden dieser Schale ausgegossen genügen, um

1) Die Doppelschalen für Blutserumplatten sind zu beziehen durch Hellige in Freiburg i. Br.

8—14 Tage wirksame Dämpfe in der Schale zu halten; später muß die Lösung erneuert werden.

Für den laufenden Gebrauch im Laboratorium und am Krankenbett möchte ich dagegen die Verwendung einer „Fixationsröhre“ empfehlen, die so konstruiert ist, daß weder die Osmiumlösung selbst noch deren Dämpfe irgendwie mit organischer Substanz in Berührung kommen, da bekanntlich nicht das Licht, sondern gerade die organische Substanz es ist, die eine schnelle Reduktion der Osmiumsäure bewirkt. Ich ließ mir deshalb eine Glasröhre mit eingeschliffenem Glasstöpsel und abgesetzter Kuppe herstellen, deren Form und Größe aus nebenstehender Abbildung zu ersehen ist (Fig. 1). Die Kuppe ist mit Glaswatte ausgefüllt, die nach vorheriger trockener Sterilisation der ganzen Röhre mit 1-proz. Osmiumlösung imprägniert ist. Nach dem Vorschlage von Lee und Meyer[1]) verwende ich zur Erzielung einer größeren Haltbarkeit keine rein wässerige Lösung von Osmiumtetroxyd, sondern eine Lösung in 1-proz. Chromsäure. Die Fixationsröhre besitzt den Vorteil, daß sie durch die eingelegten Präparate nicht beschmutzt wird, daß sie sich sowohl für Deckgläschen wie für Objektträger eignet und daß sie bequem transportiert werden kann. Gerade dieser letzte Vorzug läßt sie auch für die Einführung am Krankenbette zu Blutuntersuchungen höchst geeignet erscheinen[2]).



Fig. 1. Fixationsröhre, ca. 1/2 nat. Größe.

Die Fixation gestaltet sich im allgemeinen somit folgendermaßen:

1) Einlegen des sauber gereinigten Glases in die Fixationsröhre 1—2 Minuten lang;
2) Herausnehmen und Belegen des Glases;
3) sofortiges Zurückbringen des belegten Glases in die Fixationsröhre für 20 bis höchstens 40 Sekunden;
4) luftrocken werden lassen und Färben, ohne das Präparat durch die Flamme gezogen zu haben.

Bei dieser Vereinfachung des Verfahrens wird man es vielleicht für unangebracht halten, von „Weidenreichscher Fixationsmethode“ zu sprechen, wo doch eine ähnliche Fixation mit reinen Osmiumdämpfen von französischen Autoren schon vor Jahrzehnten angegeben wurde. In der Tat hat schon Blanchard[3]) 1879 im Gegensatz zu R. Kochs Hitzefixation für Bakterien die Behandlung mit Osmiumsäuredämpfen empfohlen, aber er ließ die Präparate erst lufttrocken werden, was natürlich prinzipiell einen wesentlichen Unterschied bedeutet und gerade bei so wasserreichen Gebilden, wie den Bakterienkapseln, zu erheblichen Schrumpfungserscheinungen führt.

Ferner hat Malassez[4]) für die Fixation des Knochenmarks und nach ihm Jolly[5]) für die Blutfixation angegeben, daß man morphologisch die schönsten Resultate erzielt bei Einwirkenlassen von Osmiumdämpfen auf die nicht angetrockneten Objekte; jedoch fanden sie die Färbung

1) Lee und Meyer, Grundzüge der mikroskopischen Technik. 1898. p. 23.
2) Die Fixationsröhre ist bei J. Meschenmoser in Straßburg i. E., Reibeisengasse, à 1,20 M. zu beziehen.
3) Blanchard, Revue internat. des sciences. T. III. 1879. p. 245.
4) Malassez, Arch. de physiol. T. IX. 1882. p. 1.
5) Jolly bei Cornil und Ranvier, Traité d'hist. pathol. 1902.

nach dieser Methode [illegible], [illegible] weil sie zu lange [illegible] hat sich denn auch ihre Methode gar nicht eingebürgert, und es ist [illegible] das Verdienst Weidenreichs, die Fixation mit Osmiumdämpfen für die Bakterienkapseln brauchbar gemacht zu haben.

Wie schon Fr. Weidenreich [1] in seiner ersten Mitteilung angegeben hat, kann man statt der Osmiumsäure auch Formalindämpfe verwenden, wenn auch die Fixation auch nicht ganz so gleichmäßig [illegible] zu gehen scheint. Jedenfalls ist die damit erzielte Fixation eine [illegible] naturgetreuere als bei der Anwendung von Hitze. Das erkannte auch Rähiger [2], der in dem „Fixieren" der Präparate den häufigsten Grund zur Verkennung der Milzbrandkapseln sieht. Er läßt daher die Präparate einfach lufttrocken werden und kombiniert die Fixation mit der Färbung in Formaldehyd-Gentianaviolett. Da Rähiger selbst zugibt, daß seine Formalinfarbe wegen ihrer stark reizenden Wirkung „nicht zum täglichen Massengebrauch vielbeschäftigter Bakteriologen geeignet ist", braucht die Ueberlegenheit der Weidenreichschen Methode, zumal da die Bakterien hier schon im feuchtem Zustande fixiert werden, wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden.

Beiläufig möchte ich noch darauf hinweisen, daß die nach Weidenreich fixierten Präparate nicht im Wasser untersucht zu werden brauchen, wie sonst die Kapselpräparate, sondern ebensogut in säurefreiem Kanadabalsam eingebettet werden können.

Angesichts der bekannten Tatsache, daß die Bakterienkapseln sehr leicht darzustellen sind bei ihrer Anwesenheit in Körperflüssigkeiten, während sie im gewöhnlichen Deckglaswasserausstrich nur schwer zur Geltung kommen, konnte man sich fragen, ob nicht durch das Ausstreichen des Kulturmaterials im Wasser die Kapseln geschädigt wurden (vergl. auch Heim, Lehrbuch der Bakteriologie, 3. Aufl., 1898, p. 182). Andererseits war vorauszusehen, daß bei der schlechten und etwas launischen Färbbarkeit der Kapseln selbst diese dadurch sichtbar gemacht werden könnten, daß man das Kulturmaterial in einem Medium verteilt, das sich substantiell färbt, so daß dann die Kapsel, falls sie nicht selbst tingiert wird, wenigstens als ungefärbte Hülle hervortritt. Auf Grund ähnlicher Ueberlegungen haben schon amerikanische Autoren [Hiss [3], Epstein [4], L. Buerger [5]] Lösungen von Blutserum, Ascites bezw. Pleuraflüssigkeit, Eiereiweiß etc. zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung als Ausstrichmedium empfohlen. Ich selbst bekam durch Ausstreichen in reinem Blutserum oder reiner Ascitesflüssigkeit äußerst befriedigende Resultate.

Das Verfahren ist höchst einfach: Man bringt mit der Platinöse ein Tröpfchen Serum (Ascitesflüssigkeit) auf das Objektglas, entnimmt eine Spur von dem zu untersuchenden Kulturmaterial und verteilt es möglichst schonend in dem Serumtröpfchen, am besten, indem man eine Spiraltour beschreibt.

Unter Anwendung dieses Verfahrens konnte ich die Schleimhülle bei einem aus dem Rachen stammenden Kapselbacillus noch in der [illegible] Generation auf gewöhnlichem Agar sehr deutlich nachweisen und [illegible]

1. Weidenreich, Folia haematologica. Vol. III [illegible]
2. Rähiger, Zeitschr. f. Fleisch- u. [illegible] Jg. [illegible]
3. Hiss, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. [illegible] Bd. XXXI [illegible]
4. Epstein, Observations etc. N. Y. [illegible]
5. Buerger, L., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX [illegible]

teriologischen Kursus“ gelang es damit den meisten Studierenden, schöne Kapselpräparate aus Agar- bezw. Bouillonkulturen bei B. Friedländer und bei Pneumococcus Fränkel herzustellen.

Auf die Viskosität des auf das Deckglas mitaufgebrachten Kulturmediums ist es jedenfalls auch größtenteilt zurückzuführen, wenn wir in der Literatur die Angabe finden, daß bei Züchtung der Kapselbacillen auf künstlichen Nährböden bloß in Milch [Paulsen[1]) und Welch[2])] oder in flüssiger Gelatine [Gordon[3])] sich mit Sicherheit Kapseln nachweisen lassen.

Um geeignete Ausstrichflüssigkeit immer steril vorrätig zu haben, bewahrt man sie in einem mit Gummistöpsel verschlossenen Röhrchen über Chloroform auf, wobei sie monatelang gebrauchsfähig bleibt.

Wie verhalten sich nun die Kapseln, die mit der so modifizierten Weidenreichschen Fixationsmethode bei den einzelnen Bakterien dargestellt werden?

Die eingehendsten Untersuchungen stellten wir mit einem aus „Hyperkeratosis pharyngea“ gezüchteten Bakterienstamm an, der morphologisch und kulturell, wie andererorts beschrieben werden wird, vollkommen mit dem B. pneumoniae Friedländer übereinstimmte. Das Bakterium war sehr virulent: 1 Oese einer 24-stündigen Agarkultur tötete weiße Mäuse innerhalb 16—20 Stunden, Herzblut und Milz fanden sich übersät mit kapseltragenden Bacillen.

Anfangs färbte ich die Kapselpräparate meist mit der Klettschen Methode, die ja am sichersten erkennen läßt, ob eine Kapsel vorhanden ist oder nicht; denn selbst wenn die Kapsel beim Nachfärben nicht rot tingiert wird — es hängt dies von der Einwirkungsdauer und Konzentration des Karbolfuchsins ab — so tritt sie doch zwischen dem leicht rosa gefärbten homogenen Serum und dem tiefblauen Bakterienleib als differenter Hof deutlich in die Erscheinung.

Weit schönere und für die Detailforschung brauchbarere Resultate erhielt ich indessen, als ich die Präparate mit Giemsas[4]) Farblösung behandelte. Nach vielfachen Versuchen bewährte sich mir am besten ein 10—15 Minuten langes Einwirkenlassen der nach Vorschrift verdünnten Farbflotte (1 Tropfen Stammlösung Grübler auf 1 ccm Aq. destill.) unter ganz leichtem Erwärmen mit kleiner Flamme während der letzten 3—5 Minuten. Der Bacillus selbst färbt sich dabei himmelblau bis blauviolett, während die Kapsel einen schönen rosa- bis hellroten Ton zeigt.

Wie ist diese Rotfärbung der Kapsel zu erklären? Da in der Giemsaschen Farblösung Eosin vorhanden ist, könnte man daran denken, daß eine rein physikalische, xantophile Elektion [Pappenheim[5])] vorliege, darauf beruhend, daß die Intermicellarspatien der Kapselsubstanz bloß dem kleinmolekularen, roten, nicht aber dem großmolekularen blauen Farbstoffe adäquat sind. Dem widerspricht indes schon die Tatsache, daß es mit Eosin allein nicht gelingt, eine Kapselfärbung zu erzielen, während man mit reinem Methylenazur II in 1-prom.

---

1) Paulsen, Centralbl. f. Bakt. etc. Ref. Bd. XIV. 1893. p. 251.
2) Welch, Bull. of Johns Hopkins Hosp. 1892. p. 125.
3) Gordon, Brit. med. Journ. 1904. March 19. p. 659.
4) Giemsa, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. p. 308.
5) Pappenheim, Grundriß der Farbchemie. 1901.

Lösung dieselbe Rotfärbung erhält wie mit Giemsas Farbgemisch. Daraus geht unzweideutig hervor, daß es sich bei der differenten Tinktion von Kapsel und Bakterienleib um echte Metachromasie handeln muß, derart, daß die Bakterienkapseln eine chromotrope Wirkung auf das Methylenazur ausüben.

Diese chromotrope Eigenschaft der Bakterienkapseln ist im Grunde schon lange bekannt. Beruhen doch die Kapselfärbemethoden von Johne, Friedländer, Nicolle, Vincent lediglich auf dieser Erscheinung! Einen Deutungsversuch hat sie indessen erst durch Heim[1]) erfahren, der auf Grund seiner Färbungen von Milzbrandbacillen mit Unnas „polychromem Methylenblau" zu dem Schlusse kam, daß die Rotfärbung der Kapsel nichts anderes ist als eine „Muzinreaktion gewisser Teile des gequollenen Bakterienleibes". Da die „Rotstichigkeit" des Methylenblaus nach L. Michaelis[2]) durch die Anwesenheit von Methylenazur bedingt ist, so erstreckt sich die Deutung Heims somit auch auf die nach Giemsa gefärbten Bilder.

Wenn wir nun, auf Grund unserer weiter unten zu besprechenden chemischen Untersuchungen, uns dieser Ansicht Heims auch nicht vollständig anschließen können, so möchten wir doch hervorheben, daß durch die Heimsche Angabe ein markanter Schritt in der Erkenntnis des Wesens der Bakterienkapseln vorwärts gemacht wurde.

Sehen wir zunächst, was wir mit Hilfe rein morphologischer Untersuchungen über die „muzinöse" Natur der Kapseln aussagen können! Daß die Kapselbacillen Schleimbildner sind, lehrt ja schon das makroskopische Aussehen ihrer Kultur. Es spricht dafür nicht nur der saftige, schmierige, stark fadenziehende Belag auf festen Nährböden, sondern auch der für das Wachstum der Kapselbacillen in Bouillonkultur so charakteristische Oberflächenring ist wohl darauf zurückzuführen: beim Verdunsten der Bouillon kleben die in der oberflächlichsten Schicht am Glasrande sich befindenden Bacillen vermöge ihrer schleimigen Hülle an diesem fest und bilden nun gewissermaßen das „punctum crystallisationis" für eine weitere ringförmige Kolonisation. Fertigt man von einem solchen Oberflächenringe in der oben angegebenen Weise ein mikroskopisches Präparat an, so sieht man deutlich, wie die einzelnen Bacillen durch dickere und dünnere polymorphe Streifen miteinander verbunden sind, so daß man ein richtiges Netzwerk von Schleimfäden vor sich hat, in das die Bacillen eingebettet erscheinen.

Diese Fäden sind nichts anderes als in die Länge gezogene Bestandteile der schleimigen Bakterienkapsel. Durch Photogramm No. 1 habe ich diese Verhältnisse wiederzugeben versucht.

Derartige Bilder hat schon Dittrich[3]) gesehen, aber er faßte sie auf als Kunstprodukte, hervorgerufen durch zu starkes Erhitzen des Präparates. Man kann Dittrich zwar nur beipflichten, wenn er betont, daß durch das Ueberhitzen die Bacillen sehr „störende Veränderungen erfahren", aber wie er die Entstehung eines „äußerst zarten, anastomosierenden Netzwerkes feinster Fäden, durch das die Ecken der einzelnen Bacillen miteinander verbunden sind", einzig und allein durch Ueberhitzung bedingt wissen will, ist mir nicht recht verständlich. Dadurch kann doch höchstens eine starke Schrumpfung eintreten - und

---

1) Heim, Arch. f. Hyg. Bd. XL. 1901. p. 56 und Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 426.
2) Michaelis, L., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXIX. 1901. p. 763.
3) Dittrich, Prager Zeitschr. f. Heilk. Bd. VIII. 1887. p. 266.

in der Tat spricht Dittrich ja auch von „feinsten“ Fäden — aber daß die Kapseln erst beim Erhitzen diese Anastomosen miteinander eingingen, kann man sich kaum vorstellen.

Auch Abel[1]) findet sich nicht auf dem richtigen Wege, wenn er in seiner Monographie über die Kapselbacillen die Fixierung ohne Erwärmung deshalb empfiehlt, „weil sonst die unregelmäßig sich um die Bacillen zusammenziehende Schleimmasse diese eigentümlich verzerrt oder mit fädigen Ansätzen versehen erscheinen läßt“.

Vielmehr glaube ich, dieses fädige Netzwerk als den „makroskopischen Ausdruck“ für die Kohärenz der Kapselbacillen bei ihrem Wachstum auf künstlichen Nährböden ansprechen zu müssen. Für diese Auffassung spricht noch ein weiterer Punkt.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß bei üppigem Wachstum der Kapselbacillen auf schräg erstarrten Nährböden innerhalb weniger Tage das ganze Kulturmaterial nach der Reagenzglaskuppe abfließt und seine fadenziehende Natur einbüßt. Dies kann nur darauf beruhen, daß mit dem Altern bezw. Absterben des größten Teils der Bakterien, wie es ja bei jeder künstlichen Kultur nach wenigen Tagen eintritt, auch deren Kapselsubstanz, vielleicht durch einen autolytischen Prozeß, zum Verschwinden kommt; denn fertigt man jetzt Präparate an aus dem abgeflossenen Material in der Reagenzglaskuppe, so sieht man höchstens noch einen zarten, roten Saum direkt um den Bacillus herum, aber von Verbindungsbrücken ist nichts mehr zu beobachten, bei Hitzefixation natürlich erst recht nicht! Es handelt sich hier um ganz ähnliche Verhältnisse, wie sie schon Cohn[2]) seinerzeit für Myconostoc beschrieben hat.

Die Ansicht Dittrichs, daß das Herabgleiten der Kultur dadurch bedingt sei, daß von der Agarfläche Wasserdampf entwickelt werde, der sich dann senke, oder aber dadurch, daß bei horizontaler Lage des Röhrchens vor der Anlegung der Kulturen das Kondensationswasser mit der Agarfläche und somit auch mit der Kultur selbst in direkte Berührung kommt und sie dadurch zum Zerfließen bringt, braucht wohl bloß der Vollständigkeit halber erwähnt zu werden.

Durch vergleichende Untersuchungen derselben Kultur zu verschiedenen Stunden und Tagen kann man sich leicht davon überzeugen, daß zur Zeit des üppigsten Bacillenwachstums auch die stärkste Kapsel- i. e. Schleimbildung stattfindet. Damit dürfte auch die Ansicht Gotschlichs[3]) widerlegt sein, der die „schleimige Intercellularsubstanz nicht bloß als Stoffwechselprodukt auffassen möchte“, sondern annimmt, daß sie „aus den, besonders in nicht mehr ganz jungen Kulturen äußerst zahlreichen, abgestorbenen Individuen hervorgeht“.

In Photogramm No. 2 sind nebeneinander stark schleimige und beinahe hüllenlose Bakterien wiedergegeben, die dem Rande eines 30-stündigen Agarrasens entnommen und nach Giemsa gefärbt sind. Wenn wir, wie seinerzeit Zettnow[4]), den für Anilinfarben leicht färbbaren Teil der Bakterienzelle als Kern ansprechen und annehmen, daß deren „schwer oder nur nach vorhergegangener Beizung“ nachweisbare Bestandteile das Plasma darstellen, so liefert dies Bild einen

1) Abel in Kolle-Wassermanns Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. III. 1903. p. 873.

2) Cohn, zitiert nach Migula, System der Bakterien. Bd. I. p. 58.

3) Gotschlich in Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. I. p. 53.

4) Zettnow, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. X. 1891. p. 689.

schönen Beleg für die von Zettnow[1]) später ausgesprochene Ansicht, daß „ausnahmsweise in ganz jungen Kulturen das Plasma in größerer Menge vorkommt als das Chromatin, während bei vorgeschrittenem Alter das Verhältnis sich umkehrt".

So wird man sich denn auch die hier und da in der Literatur erwähnten (cf. Gotschlich in Kolle-Wassermanns Handbuch. Bd. I. p. 51) „leeren Kapseln" nicht, wie bisher, so vorstellen dürfen, als handle es sich dabei um Reste von Kapselbacillen, deren Entoplasma innerhalb der Kapsel zerfallen oder aufgelöst ist, vielmehr kann es sich bei diesen, besonders im Blute gefallener Tiere gefundenen Gebilden bloß um ganz jugendliche Formen handeln, bei denen erst eine Spur von Chromatinsubstanz sich findet; wenigstens konnte ich in meinen Präparaten bei genauer Beobachtung immer eine solche nachweisen (vergl. auch Photogramm No. 5).

Nach dem Gesagten dürfte es kaum zweifelhaft erscheinen, daß die im Tierkörper beobachtete „Kapsel" mit der auf künstlichen Nährmedien gebildeten „Schleimhülle" identisch ist. Indessen scheinen sogar erfahrene Forscher auf dem Gebiete der Kapselbacillen diese Ansicht nicht zu teilen. Schreibt doch Abel (l. c. p. 873) wörtlich: „Die im Körper gekapselten Bacillen zeigen, auf den üblichen künstlichen Substraten gezüchtet, nur in den ersten Generationen noch hier und da deutlich abgegrenzte Kapseln. Meist fehlen sie und sind ersetzt durch eine dichte Schleimmasse, in die die Bacillen eingebettet sind. Impft man Kapselbacillen aus Kulturen in den Körper empfänglicher Tiere ein, so sieht man sie hier wieder mit Kapseln wie im menschlichen Körper sich umgeben." Zu diesen Aeußerungen kann Abel nur dadurch verleitet worden sein, daß er sich die „Kapsel" im Tierkörper nach außen hin, vermutlich durch eine Art Membran, scharf abgegrenzt denkt.

Mit einer derartigen Annahme steht er allerdings nicht allein da. So hält es Migula[2]) für sehr wahrscheinlich, „daß die äußere, stark gequollene Hülle noch durch eine wasserärmere Schicht gegen die umgebende Flüssigkeit abgegrenzt wird, wie dies wenigstens an Präparaten von Gewebssäften aus der stärkeren Färbung geschlossen werden kann", und Buerger[3]) möchte „die Unmöglichkeit, wohlbegrenzte Hüllen in Kulturen nachzuweisen, dem Umstande zuschreiben, daß entweder eine Verschmelzung der schleimigen Hülle in eine gallertige Masse oder eine Ueberproduktion dieser Substanz ohne Entwickelung deutlicher Kapselmembranen (!) stattgefunden hat". Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß Buerger die Kapselmembran als integrierenden Bestandteil des Kapselbacillus ansieht, obschon er bei einer anderen Gelegenheit (l. c. p. 222) selbst zugibt, daß durch das in seiner Fixationsflüssigkeit enthaltene Sublimat „vielleicht ein gewisser Grad von Verdichtung der äußeren Kapselschichten eintritt", die Erwägung, daß es sich bei seinen auffälligen „Außenmembranen" um derartige Kunstprodukte handeln könnte, also auch für ihn nicht allzufern hätte liegen dürfen!

Zwar gibt auch Heim[4]) an, daß „bei günstiger Färbung die hellere Zone der Kapsel von einem zarten, aber deutlich intensiver gefärbten Saum begrenzt ist", indessen ist unter den zahlreichen Reproduktionen von Kapselbacillen, die er bringt, bloß an einer einzigen

1) Zettnow, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXX. p. 1.
2) Migula, System. d. Bakt. Bd. I. p. 57.
3) Buerger, L., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 216.
4) Heim, Lehrb. d. Bakt. 3. Aufl. 1906. p. 181.

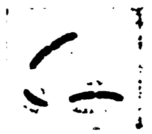
(Taf. I. Fig. 6) ein derartiger Saum zu erkennen; außerdem gibt er in den Erläuterungen zu Taf. I. No. 1 selbst an, daß „die Kapsel nicht sehr deutlich begrenzt, vielmehr nur als heller Hof um die Bakterien vorhanden" ist.

Wir selbst haben bei sorgfältiger Anwendung der Weidenreichschen Fixationsmethode eine als „Kapselmembran" zu deutende Außenzone nie erhalten, ebensowenig wie wir bei Zettnows Abbildungen eingekapselter Bakterien (s. Atlas z. Handbuch d. pathogen. Mikroorgan. von Kolle u. Wassermann, Photogr. No. 225, 232, 278) etwas derartiges erkennen konnten. Hingegen läßt sich gerade an der Hand unserer Bilder schön demonstrieren, wie frühere Autoren zu der Annahme einer Außenmembran kommen konnten. So zeigt z. B. bei dem ganz großen Bacillus auf Photogramm No. 2 die Kapsel am Rande der beiden Längsseiten eine deutlich intensivere Färbung als im intermediären Raume; aber das rührt daher, daß hier die Schleimsubstanz beim Verteilen des Kulturmateriales im Blutserum sich etwas kontrahierte, während sie an den Polen durch Verbindungsbrücken mit den angrenzenden Bacillen in Spannung gehalten wurde. Dieselben Verhältnisse zeigt Fig. 2.


Fig. 2.

Fig. 2. B. pneumon. Friedländer. Blutserumausstrich aus 24-stündiger Agarkultur. Färbung mit polychromem Methylenblau.

Fig. 3. B. pneumon. Friedländer im Mäuseblut. Färbung mit polychromem Methylenblau.


Fig. 3.

Noch weniger war im Ausstrich tierischen Materials auf dem vorbehandelten Objektträger irgend etwas von membranöser Verdichtung an der äußeren Grenze der Bakterienkapseln zu erkennen. Vielmehr fanden wir, wie Fig. 3 veranschaulicht, den Rand vielfach leicht gezähnelt oder wie ausgefranst; man gewinnt geradezu den Eindruck, als quelle die Schleimhülle aus dem Bacillus hervor und verliere sich mehr oder weniger diffus in dem umgebenden Medium.

Daß es im Blute gewöhnlich nicht zur Bildung zusammenhängender Schleimmassen kommt, rührt einfach daher, daß die Bacillen, vermöge ihres Bestrebens, sich in Flüssigkeiten möglichst gleichmäßig zu verteilen, nicht so nahe aneinanderzuliegen kommen, daß ein Verbacken ihrer Schleimhüllen stattfinden könnte. Aus demselben Grunde findet man bei der Untersuchung ganz junger Bouillonkulturen (6—8-stündig), vorausgesetzt, daß man aus der Mitte der Flüssigkeit abimpft, immer nur vereinzelt liegende Kapselbacillen, die bei Giemsa-Färbung ganz ähnliche dentritisch verzweigte Fortsätze zeigen, wie sie Hinterberger[1]) mit Hilfe der van Ermengemschen Geißelmethode beim Milzbrandbacillus zur Darstellung bringen konnte, bloß daß bei der eingreifenden Behandlung Hinterbergers diese Gebilde durchweg auf Geißeldünne zusammengeschrumpft sind.

Die Angaben von Babes[2]), daß an der Kapsel der Friedländerschen Pneumoniebacillen eine „deutliche konzentrische Schichtung" wahrnehmbar ist, konnte ich nie bestätigt finden. Vielmehr erhielt ich bei

1) Hinterberger, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. 1901. p. 417.
2) Babes, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionsk. Bd. XX. 1895. p. 412.

seltensten finden sich bei Milzbrandbacillen Kapseln in künstlichen Nährmedien, was vielleicht mit dem außergewöhnlich hohen Wassergehalt und der dadurch bedingten Fragilität der Milzbrandkapseln in Zusammenhang zu bringen ist.

11) Bei den nach Boni dargestellten Kapseln handelt es sich um Kunstprodukte, beruhend auf Quellung der mit unserer Methode bei fast allen Bakterien nachweisbaren „Zellhülle".

12) Zwischen „Zellhülle" und „Kapsel" bestehen bloß quantitative Unterschiede; beide finden sich am schönsten ausgeprägt bei üppigstem Bakterienwachstum.

Herrn Dr. M. Forest bin ich für die Anfertigung der Mikrophotogramme zu ganz besonderem Danke verpflichtet.

Erläuterungen zu den Photogrammen.

Die Photogramme wurden von Herrn Dr. M. Forest aufgenommen mit Zeiss' aprochrom. Oelimmersion 2 mm, Kompens.-Okular 6 und Leitz' kleinem mikrophotographischem Apparat.

Auerlicht; Silbereosinplatten. Expositionszeit 2—5 Minuten. Vergr. ca. 1000-fach.

Die zinkotypischen Reproduktionen sind um $^4/_5$ verkleinert.

Photogr. 1. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Oberflächenring einer 30-stünd. Bouillonkultur. Färbung mit polychromem Methylenblau. Die Bacillen erscheinen in einem Netzwerk von Schleimfäden eingebettet. Von einer membranartigen Abgrenzung der die Bacillen direkt umgebenden Kapsel gegen die Schleimmassen ist nichts zu bemerken.

Photogr. 2. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Rande einer 30-stünd. Agarkultur. Färbung mit Giemsa-Lösung.

Nebeneinander ganz junge Bacillen mit viel Kapselsubstanz und wenig Entoplasma und ältere Bacillen, die fast ausschließlich aus Entoplasma bestehen. Von einer „Kapselmembran" kann hier nicht die Rede sein.

Photogr. 3. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich von einer 24-stündigen Gelatinekultur in Ascitesflüssigkeit. Vergr. bloß 800-fach. Intensivfärbung mit Giemsa-Lösung.

Die Schleimhüllen besitzen kürzere und längere, geißelartige Fortsätze, die vielfach schon anastomosieren. Keine „Außenmembran".

Photogr. 4. B. pneumoniae Friedländer. 24-stünd. Agarkultur mit 1-proz. Collargollösung im „hängenden Tropfen" verteilt. — Schleimbrücken, keine Außenmembran der Kapsel.

Photogr. 5. Micrococcus tetragenus. 24-stünd. Agarkultur in 5. Generation. — Große „leere" Kapseln mit Spur Entoplasma neben alten Kokken mit viel Entoplasma und minimalem Kapselrest. Keine Kapselmembran.

Photogr. 6. B. anthracis. Milzausstrich von Maus. Die äußerst weiche, gallertige Beschaffenheit der membranlosen Kapsel erhellt sowohl aus deren unregelan dem mäßig geformtem Rande — man beachte besonders das „Horn" zu unterst etwas rechts gelegenen Bacillus! — als auch aus deren Adaptionsfähigkeit an die angrenzenden Zellen.

---

die schleimigen Verbindungsbrücken zwischen den einzelnen Kapseln durchaus nicht von der Fixation abhängig sind; denn auch hier treten sie stellenweise recht deutlich hervor.

Aus alledem erhellt zur Genüge, daß wir es bei den Bakterienkapseln mit einer homogenen, schleimigen Masse zu tun haben, die den Bakterienleib allseitig umhüllt und ohne besondere Abgrenzung in dem umgebenden Medium sich verliert.

Es muß daher möglich sein, diese Schleimhülle in einem geeigneten Vehikel zur Auflösung zu bringen, und sie so einer chemischen Analyse zugänglich zu machen. Eine derartige Untersuchung erscheint deshalb so erwünscht, weil man die chromotrope Beeinflussungsfähigkeit verschiedener basischer Teerfarbstoffe (Methylenazur, Thionin, Safranin) durch die Kapselsubstanz doch nicht ohne weiteres als spezifisches „Reagens“ für Muzin verwerten darf; denn die Eigenschaft, diese Verbindungen metachromatisch zu färben, kommt noch einer ganzen Reihe anderer Substanzen zu (Grundsubstanz des Knorpels, Mastzellenkörner, Whartonsche Sulze etc.). Auch Heim[1]) drückt sich deshalb neuerdings sehr vorsichtig aus, indem er sagt: „die Kapsel enthält Muzin oder eine ihm sehr ähnliche Masse“.

In der Tat ist es uns nun gelungen, auf chemisch-analytischem Wege zu zeigen, daß die Kapselsubstanz nicht aus richtigem Muzin, sondern aus Nukleoalbumin bezw. Nukleoproteid besteht.

Wir verfuhren dabei folgendermaßen: der gut gewachsene, stark schleimige Kulturrasen von 20 48-stündigen Schrägagarröhrchen wurde mit dem Platinspatel abgeschabt, im sterilen Mörser mit 0,1-proz. Natronlauge zu gleichmäßiger Aufschwemmung verteilt und so lange zentrifugiert, bis eine vollkommen homogene, milchige Flüssigkeit erhalten wurde.

Diese Emulsion, in der mikroskopisch die Bacillen mit ihrer Schleimhülle nachweisbar waren, diente als Ausgangsmaterial für folgende Reaktionen:

Ein Teil wurde mit einigen Tropfen Acid. acetic. dilut. versetzt. Sofort trat die Ausscheidung eines feinflockigen Niederschlages ein, der im Ueberschuß von Essigsäure sich nicht löste. Beim Kochen der stark alkalisch gemachten Emulsion war hingegen keine Ausfällung zu beobachten.

Ein anderer Teil wurde nach Salkowski[2]) mit einem Gemisch von 3 Vol. Wasser und und 1 Vol. Salzsäure versetzt (40 ccm Emulsion auf 10 ccm $^1/_3$ Salzsäure), 5 Minuten im Wasserbad bei 100° erhitzt und ca. 2 Stunden abzentrifugiert. So erhielt ich eine klare, leicht gelblich gefärbte Flüssigkeit, in der keinerlei korpuskuläre Elemente mehr suspendiert waren, während der weiße Bodensatz sich aus hüllenlosen, dünnen Bacillen zusammengesetzt zeigte. Diese Flüssigkeit stellte somit eine Lösung der Kapselsubstanz dar.

Die Lösung wurde nun im Erlenmeyerschen Glaskölbchen ca. 10 Minuten lang im Sieden gehalten — die Flüssigkeit schäumt dabei sehr stark auf — abgekühlt, alkalisiert und mit wenigen Tropfen einer ganz schwachen Kupfersulfatlösung versetzt. Nach nochmaligem Erhitzen und raschem Abkühlen wurde die Ausscheidung von rotem Kupferoxydul erwartet, vergeblich, trotz mehrfach wiederholter Probe.

---

1) Heim, Lehrb. d. Bakt. 3. Aufl. 1906. p. 182.
2) Salkowski, Praktikum der phys. u. path. Chemie. 1906. p. 136.

seltensten finden sich bei Milzbrandbacillen Kapseln in künstlichen Nährmedien, was vielleicht mit dem außergewöhnlich hohen Wassergehalt und der dadurch bedingten Fragilität der Milzbrandkapseln in Zusammenhang zu bringen ist.

11) Bei den nach Boni dargestellten Kapseln handelt es sich um Kunstprodukte, beruhend auf Quellung der mit unserer Methode bei fast allen Bakterien nachweisbaren „Zellhülle".

12) Zwischen „Zellhülle" und „Kapsel" bestehen bloß quantitative Unterschiede; beide finden sich am schönsten ausgeprägt bei üppigstem Bakterienwachstum.

Herrn Dr. M. Forest bin ich für die Anfertigung der Mikrophotogramme zu ganz besonderem Danke verpflichtet.

Erläuterungen zu den Photogrammen.

Die Photogramme wurden von Herrn Dr. M. Forest aufgenommen mit Zeiss' aprochrom. Oelimmersion 2 mm, Kompens.-Okular 6 und Leitz' kleinem mikrophotographischem Apparat.

Auerlicht; Silbereosinplatten. Expositionszeit 2—5 Minuten. Vergr. ca. 1000-fach.

Die zinkotypischen Reproduktionen sind um $^4/_5$ verkleinert.

Photogr. 1. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Oberflächenring einer 30-stünd. Bouillonkultur. Färbung mit polychromem Methylenblau. Die Bacillen erscheinen in einem Netzwerk von Schleimfäden eingebettet. Von einer membranartigen Abgrenzung der die Bacillen direkt umgebenden Kapsel gegen die Schleimmassen ist nichts zu bemerken.

Photogr. 2. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Rande einer 30-stünd. Agarkultur. Färbung mit Giemsa-Lösung.

Nebeneinander ganz junge Bacillen mit viel Kapselsubstanz und wenig Entoplasma und ältere Bacillen, die fast ausschließlich aus Entoplasma bestehen. Von einer „Kapselmembran" kann hier nicht die Rede sein.

Photogr. 3. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich von einer 24-stündigen Gelatinekultur in Ascitesflüssigkeit. Vergr. bloß 800-fach. Intensivfärbung mit Giemsa-Lösung.

Die Schleimhüllen besitzen kürzere und längere, geißelartige Fortsätze, die vielfach schon anastomosieren. Keine „Außenmembran".

Photogr. 4. B. pneumoniae Friedländer. 24-stünd. Agarkultur mit 1-proz. Collargollösung im „hängenden Tropfen" verteilt. — Schleimbrücken, keine Außenmembran der Kapsel.

Photogr. 5. Micrococcus tetragenus. 24-stünd. Agarkultur in 5. Generation. — Große „leere" Kapseln mit Spur Entoplasma neben alten Kokken mit viel Entoplasma und minimalem Kapselrest. Keine Kapselmembran.

Photogr. 6. B. anthracis. Milzausstrich von Maus. Die äußerst weiche, gallertige Beschaffenheit der membranlosen Kapsel erhellt sowohl aus deren unregelan dem mäßig geformtem Rande — man beachte besonders das „Horn" zu unterst etwas rechts gelegenen Bacillus! — als auch aus deren Adaptionsfähigkeit an die angrenzenden Zellen.

bacillen, mit der Weidenreichschen Fixationsmethode den gleichen Befund, wie er auch früher als der normale angegeben wurde, nämlich das völlige Ausbleiben der Kapselbildung auf künstlichen Nährböden. Zwar bekam ich im Tierkörper Kapseln von einer Größe und Anschaulichkeit, wie ich sie in keiner der mir zu Gebote stehenden Abbildungen von Milzbrand vorgefunden habe, aber kulturell konnte ich höchstens in der ersten, nie in einer späteren Generation Schleimreste an den Bacillen nachweisen.

Eine Erklärung für diesen Unterschied in der Kapselbildung beim Anthraxbacillus gegenüber den anderen kapseltragenden Mikroorganismen vermag ich nicht zu geben. Nur so viel glaube ich aussagen zu können, daß die Milzbrandkapseln sich auch qualitativ von den übrigen Bakterienkapseln unterschieden. Auf Grund gewisser morphologischer Eigentümlichkeiten gewinnt man nämlich den Eindruck, als ob die Milzbrandkapseln sich durch einen ganz außergewöhnlichen Wassergehalt und damit Hand in Hand gehend, durch eine außerordentliche Fragilität auszeichnen.

Folgende Punkte sprechen für diese Anschauung: zu wiederholten Malen beobachtete ich, daß bei Ausstrichpräparaten von Milzbrandblut, die nach der Fixation mehrere Tage offen an der Luft gelegen hatten, die Schleimsubstanz nur noch ungefähr halb so breit war, als an den direkt nach der Fixation tingierten Ausstrichen. Ferner konnte ich an den Exemplaren des Milzbrandstammes, von dem Photogramm No. VI herrührt, einmal nur noch einen ganz schmalen Saum von Schleimsubstanz nachweisen, als ich nämlich Präparate aus dem Blute eines Meerschweinchens anfertigte, das nach dem Verenden aus Versehen 5 Tage im Eisschrank aufbewahrt worden war.

Außerdem ist es eine bekannte Tatsache, daß man bei Ausstrichpräparaten von Milzbrandmaterial die größten „Serumhöfe" bekommt, was doch sicher nicht an dem Serum, sondern nur an der besonders ausgiebigen Schrumpfung der Kapsel gelegen sein kann. Endlich findet die so viel besprochene „Bambusform" der Milzbrandbacillen, die ja geradezu als differentialdiagnostisches Merkmal angesehen wird, wie schon Klett[1]) hervorgehoben hat, am natürlichsten doch darin ihre Erklärung, daß man sie sich durch Kontraktion der Plasmahülle infolge von ausgiebigem Wasserverlust entstanden denkt.

Wie außerordentlich weich und gallertig die Milzbrandkapsel sein muß, läßt sich sehr schön auch aus unserem Photogramm No. VI erkennen: sieht man doch die Kapseln den angrenzenden Zellen an einigen Stellen angepaßt wie Saughütchen ihrer Unterlage!

Dies alles spricht für einen enormen Wassergehalt, der zwar noch keine Erklärung dafür liefert, daß z. B. in Bouillonkultur keine Kapsel gebildet wird, der uns aber doch ein Analogon für die Ausnahmestellung der Milzbrandkapseln abgibt.

Nebenbei möchten wir noch darauf hinweisen, daß das Präparat, von dem unser Photogramm No. VI stammt, einen unzweideutigen Beleg liefert für die von Heim[2]) gegen v. Behring und Much[3]) vertretene Ansicht, daß nämlich die Rotfärbung der Gefäßendothelzellen bei Milzbrandtieren nicht aufzufassen ist als „oxyphile Degeneration" dieser

---

1) Klett, Cit. nach Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikr. Bd. II. p. 9.
2) Heim, Münch. med. Wochenschr. Bd. LI. 1904. p. 426.
3) v. Behring und Much, Deutsche med. Wochenschr. 1904. p. 2.

seltensten finden sich bei Milzbrandbacillen Kapseln in künstlichen Nährmedien, was vielleicht mit dem außergewöhnlich hohen Wassergehalt und der dadurch bedingten Fragilität der Milzbrandkapseln in Zusammenhang zu bringen ist.

11) Bei den nach Boni dargestellten Kapseln handelt es sich um Kunstprodukte, beruhend auf Quellung der mit unserer Methode bei fast allen Bakterien nachweisbaren „Zellhülle“.

12) Zwischen „Zellhülle“ und „Kapsel“ bestehen bloß quantitative Unterschiede; beide finden sich am schönsten ausgeprägt bei üppigstem Bakterienwachstum.

Herrn Dr. M. Forest bin ich für die Anfertigung der Mikrophotogramme zu ganz besonderem Danke verpflichtet.

Erläuterungen zu den Photogrammen.

Die Photogramme wurden von Herrn Dr. M. Forest aufgenommen mit Zeiss' aprochrom. Oelimmersion 2 mm, Kompens.-Okular 6 und Leitz' kleinem mikrophotographischem Apparat.

Auerlicht; Silbereosinplatten. Expositionszeit 2—5 Minuten. Vergr. ca. 1000-fach. Die zinkotypischen Reproduktionen sind um $^4/_5$ verkleinert.

Photogr. 1. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Oberflächenring einer 30-stünd. Bouillonkultur. Färbung mit polychromem Methylenblau. Die Bacillen erscheinen in einem Netzwerk von Schleimfäden eingebettet. Von einer membranartigen Abgrenzung der die Bacillen direkt umgebenden Kapsel gegen die Schleimmassen ist nichts zu bemerken.

Photogr. 2. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Rande einer 30-stünd. Agarkultur. Färbung mit Giemsa-Lösung. Nebeneinander ganz junge Bacillen mit viel Kapselsubstanz und wenig Entoplasma und ältere Bacillen, die fast ausschließlich aus Entoplasma bestehen. Von einer „Kapselmembran“ kann hier nicht die Rede sein.

Photogr. 3. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich von einer 24-stündigen Gelatinekultur in Ascitesflüssigkeit. Vergr. bloß 800-fach. Intensivfärbung mit Giemsa-Lösung.
Die Schleimhüllen besitzen kürzere und längere, geißelartige Fortsätze, die vielfach schon anastomosieren. Keine „Außenmembran“.

Photogr. 4. B. pneumoniae Friedländer. 24-stünd. Agarkultur mit 1-proz. Collargollösung im „hängenden Tropfen“ verteilt. — Schleimbrücken, keine Außenmembran der Kapsel.

Photogr. 5. Micrococcus tetragenus. 24-stünd. Agarkultur in 5. Generation. — Große „leere“ Kapseln mit Spur Entoplasma neben alten Kokken mit viel Entoplasma und minimalem Kapselrest. Keine Kapselmembran.

Photogr. 6. B. anthracis. Milzausstrich von Maus. Die äußerst weiche, gallertige Beschaffenheit der membranlosen Kapsel erhellt sowohl aus deren unregelan dem mäßig geformtem Rande — man beachte besonders das „Horn“ zu unterst etwas rechts gelegenen Bacillus! — als auch aus deren Adaptionsfähigkeit an die angrenzenden Zellen.

tativ unterscheiden. Warum diese Schleimhülle bei den „Kapselbacillen“ so hochgradig „aufgequollen“ ist, läßt sich natürlich nicht ergründen, das müssen wir ohne teleologische Tüftelei einfach als morphologische Eigentümlichkeit hinnehmen! Dahinter irgend einen biologischen Zweck suchen zu wollen, halten wir für ebenso gewagt wie die Hypothese, daß der infizierte Organismus deshalb einen Anreiz zu stärkerer Kapselbildung abgibt, weil die Bacillen sich durch die Ausscheidung der Schleimhülle gegen die Auflösung von seiten der Körpersäfte zu schützen suchen.

Das einzige, was wir auf Grund des Studiums der Biologie der kapselbildenden Bakterien [vergl. auch Streit[1])] über diese Verhältnisse aussagen können, ist dies, daß die infolge günstiger Ernährungsbedingungen der Mikroorganismen gesteigerte vitale Energie auch in einer erhöhten Schleimbildung ihren Ausdruck findet.

Die Resultate der vorliegenden Untersuchungen lassen sich in folgende **Schlußsätze** zusammenfassen:

1) Als das zuverlässigste Verfahren, die Bakterienkapseln in möglichst natürlichem Zustande zu erhalten, müssen wir die „Weidenreichsche Fixationsmethode“ ansehen.

2) Mit Hilfe der „Fixationsröhre“ kann diese Fixation mit Leichtigkeit überall ausgeführt werden.

3) Zur Darstellung der Kapseln von Bakterien aus künstlichen Nährböden empfiehlt es sich, das Material nicht in Wasser, sondern in einer viskösen Flüssigkeit (Blutserum, Ascitesflüssigkeit) auszustreichen.

4) Das anastomosierende Netzwerk schmälerer und breiterer Fäden, das man beim Ausstreichen üppig gewachsener Kapselbacillenkultur erhält, ist entstanden zu denken durch das Auseinandergezogenwerden der fest miteinander verbackenen Schleimhüllen der Bakterien.

5) Diese „Schleimhüllen“ sind mit den im Tierkörper gebildeten „Kapseln“ durchaus identisch.

6) Eine die Schleimhülle nach außen hin abgrenzende „Kapselmembran“ ist auch im Tierkörper nicht nachweisbar.

7) Die Kapsel erscheint am größten um junge Bacillen herum; sie verschwindet mit zunehmendem Alter der Bacillen.

„Leere Kapseln“ sind nicht durch Schwund des Entoplasmas entstanden zu denken, vielmehr ist dies hier erst in der Entwickelung begriffen.

8) Die Beobachtung der Kapselbakterien in 1-proz. Collargollösung beweist, daß durch die Weidenreichsche Fixationsmethode wesentliche Kunstprodukte, insbesondere irgendwelche Quellungserscheinungen, nicht hervorgerufen werden.

9) Die Kapselsubstanz enthält kein Muzin, sondern Nukleoalbumin bezw. Nukleoproteid.

10) Die Kapselbildung läßt sich an einigen Bakterienarten bei Weiterzüchtung auf künstlichen Nährböden beliebig lange verfolgen, bei anderen hört sie schon nach wenigen Generationen auf. Am

1) Streit, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XL. März 1906.

seltensten finden sich bei Milzbrandbacillen Kapseln in künstlichen Nährmedien, was vielleicht mit dem außergewöhnlich hohen Wassergehalt und der dadurch bedingten Fragilität der Milzbrandkapseln in Zusammenhang zu bringen ist.

11) Bei den nach Boni dargestellten Kapseln handelt es sich um Kunstprodukte, beruhend auf Quellung der mit unserer Methode bei fast allen Bakterien nachweisbaren „Zellhülle“.

12) Zwischen „Zellhülle“ und „Kapsel“ bestehen bloß quantitative Unterschiede; beide finden sich am schönsten ausgeprägt bei üppigstem Bakterienwachstum.

Herrn Dr. M. Forest bin ich für die Anfertigung der Mikrophotogramme zu ganz besonderem Danke verpflichtet.

Erläuterungen zu den Photogrammen.

Die Photogramme wurden von Herrn Dr. M. Forest aufgenommen mit Zeiss' aprochrom. Oelimmersion 2 mm, Kompens.-Okular 6 und Leitz' kleinem mikrophotographischem Apparat.

Auerlicht; Silbereosinplatten. Expositionszeit 2—5 Minuten. Vergr. ca. 1000-fach.

Die zinkotypischen Reproduktionen sind um $^4/_5$ verkleinert.

Photogr. 1. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Oberflächenring einer 30-stünd. Bouillonkultur. Färbung mit polychromem Methylenblau. Die Bacillen erscheinen in einem Netzwerk von Schleimfäden eingebettet. Von einer membranartigen Abgrenzung der die Bacillen direkt umgebenden Kapsel gegen die Schleimmassen ist nichts zu bemerken.

Photogr. 2. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Rande einer 30-stünd. Agarkultur. Färbung mit Giemsa-Lösung.

Nebeneinander ganz junge Bacillen mit viel Kapselsubstanz und wenig Entoplasma und ältere Bacillen, die fast ausschließlich aus Entoplasma bestehen. Von einer „Kapselmembran“ kann hier nicht die Rede sein.

Photogr. 3. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich von einer 24-stündigen Gelatinekultur in Ascitesflüssigkeit. Vergr. bloß 800-fach. Intensivfärbung mit Giemsa-Lösung.

Die Schleimhüllen besitzen kürzere und längere, geißelartige Fortsätze, die vielfach schon anastomosieren. Keine „Außenmembran“.

Photogr. 4. B. pneumoniae Friedländer. 24-stünd. Agarkultur mit 1-proz. Collargollösung im „hängenden Tropfen“ verteilt. — Schleimbrücken, keine Außenmembran der Kapsel.

Photogr. 5. Micrococcus tetragenus. 24-stünd. Agarkultur in 5. Generation. — Große „leere“ Kapseln mit Spur Entoplasma neben alten Kokken mit viel Entoplasma und minimalem Kapselrest. Keine Kapselmembran.

Photogr. 6. B. anthracis. Milzausstrich von Maus. Die äußerst weiche, gallertige Beschaffenheit der membranlosen Kapsel erhellt sowohl aus deren unregelan dem mäßig geformtem Rande — man beachte besonders das „Horn“ zu unterst etwas rechts gelegenen Bacillus! — als auch aus deren Adaptionsfähigkeit an die angrenzenden Zellen.

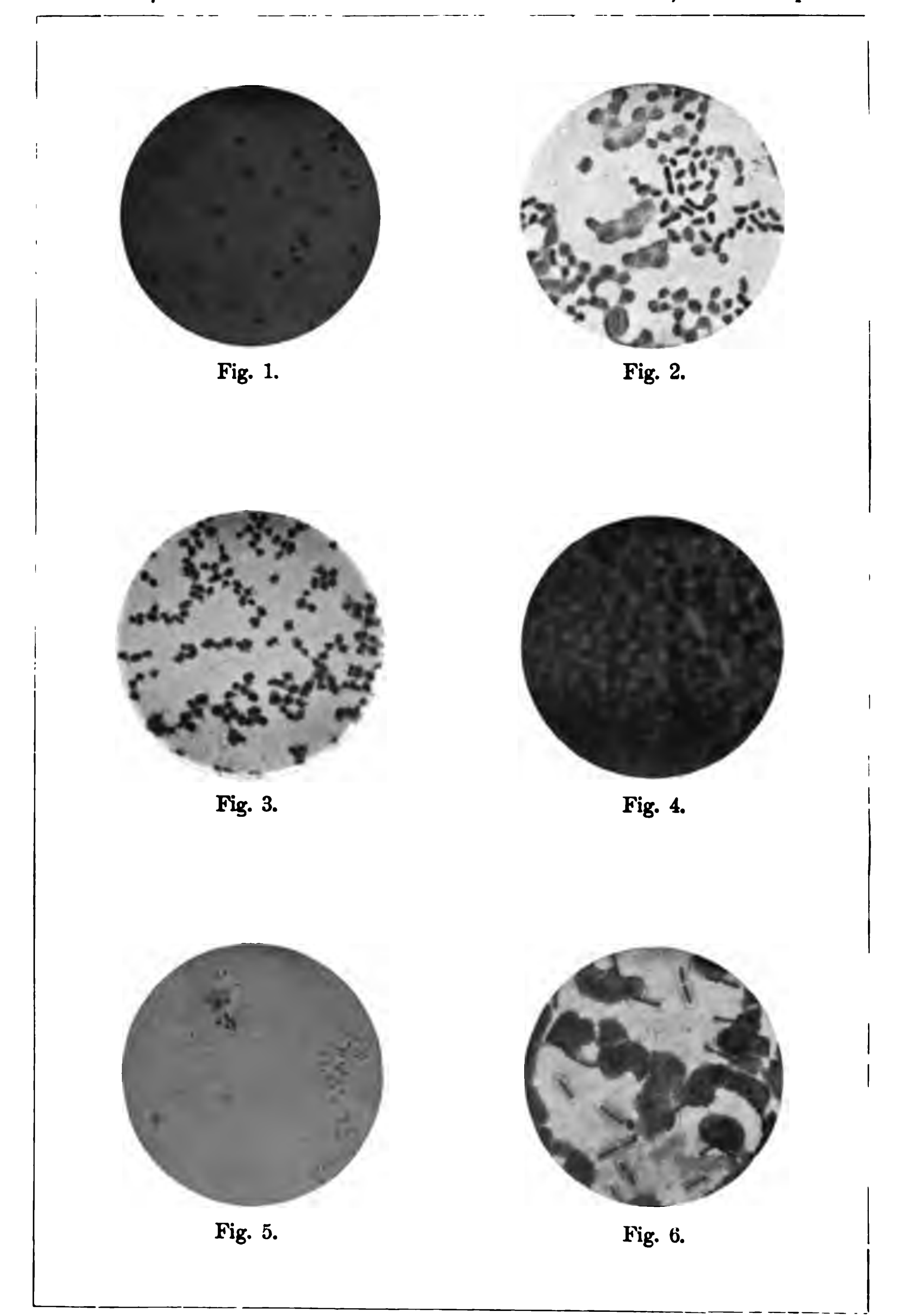


Fig. 1. Fig. 2.

Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 5. Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

seltensten finden sich bei Milzbrandbacillen Kapseln in künstlichen Nährmedien, was vielleicht mit dem außergewöhnlich hohen Wassergehalt und der dadurch bedingten Fragilität der Milzbrandkapseln in Zusammenhang zu bringen ist.

11) Bei den nach Boni dargestellten Kapseln handelt es sich um Kunstprodukte, beruhend auf Quellung der mit unserer Methode bei fast allen Bakterien nachweisbaren „Zellhülle".

12) Zwischen „Zellhülle" und „Kapsel" bestehen bloß quantitative Unterschiede; beide finden sich am schönsten ausgeprägt bei üppigstem Bakterienwachstum.

Herrn Dr. M. Forest bin ich für die Anfertigung der Mikrophotogramme zu ganz besonderem Danke verpflichtet.

Erläuterungen zu den Photogrammen.

Die Photogramme wurden von Herrn Dr. M. Forest aufgenommen mit Zeiss' aprochrom. Oelimmersion 2 mm, Kompens.-Okular 6 und Leitz' kleinem mikrophotographischem Apparat.

Auerlicht; Silbereosinplatten. Expositionszeit 2—5 Minuten. Vergr. ca. 1000-fach.

Die zinkotypischen Reproduktionen sind um $^4/_5$ verkleinert.

Photogr. 1. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Oberflächenring einer 30-stünd. Bouillonkultur. Färbung mit polychromem Methylenblau. Die Bacillen erscheinen in einem Netzwerk von Schleimfäden eingebettet. Von einer membranartigen Abgrenzung der die Bacillen direkt umgebenden Kapsel gegen die Schleimmassen ist nichts zu bemerken.

Photogr. 2. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich in Blutserum vom Rande einer 30-stünd. Agarkultur. Färbung mit Giemsa-Lösung.

Nebeneinander ganz junge Bacillen mit viel Kapselsubstanz und wenig Entoplasma und ältere Bacillen, die fast ausschließlich aus Entoplasma bestehen. Von einer „Kapselmembran" kann hier nicht die Rede sein.

Photogr. 3. B. pneumoniae Friedländer. Ausstrich von einer 24-stündigen Gelatinekultur in Ascitesflüssigkeit. Vergr. bloß 800-fach. Intensivfärbung mit Giemsa-Lösung.

Die Schleimhüllen besitzen kürzere und längere, geißelartige Fortsätze, die vielfach schon anastomosieren. Keine „Außenmembran".

Photogr. 4. B. pneumoniae Friedländer. 24-stünd. Agarkultur mit 1-proz. Collargollösung im „hängenden Tropfen" verteilt. — Schleimbrücken, keine Außenmembran der Kapsel.

Photogr. 5. Micrococcus tetragenus. 24-stünd. Agarkultur in 5. Generation. — Große „leere" Kapseln mit Spur Entoplasma neben alten Kokken mit viel Entoplasma und minimalem Kapselrest. Keine Kapselmembran.

Photogr. 6. B. anthracis. Milzausstrich von Maus. Die äußerst weiche, gallertige Beschaffenheit der membranlosen Kapsel erhellt sowohl aus deren unregelan dem mäßig geformtem Rande — man beachte besonders das „Horn" zu unterst etwas rechts gelegenen Bacillus! — als auch aus deren Adaptionsfähigkeit an die angrenzenden Zellen.

Inhalt.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Beitrag zur Frage des Ueberganges von Mikroorganismen (Tuberkelbacillen) von Mutter auf Fötus.

[Aus dem Institute für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg.]

Von

Dr. A. Hamm,
I. Assistenten d. hyg.-bakt. Institutes,
jetzt Assistent der Frauenklinik.

Dr. P. Schrumpf,
I. Assistenten des patholog. Institutes.

1902 publizierte Lebküchner[1]), ein Schüler v. Baumgartens, im Anschluß an 2 Fälle von Tuberkulose bei Säuglingen, die er als kongenital hält, eine sehr vollkommene Zusammenstellung der diesbezüglichen Literatur. Wir können uns daher begnügen, auf dieselbe hier hinzuweisen. Von 115 Fällen von Tuberkulose im frühesten Kindesalter hält er 18 für sicher kongenital. Davon wurden 9 gleich bei der Geburt konstatiert, bei 4 derselben wurde die Diagnose durch den Bacillennachweis im kindlichen Gewebe gestellt, bei 3 durch Impfversuche, bei 2 durch den Nachweis der charakteristischen makroskopischen und histologischen Kennzeichen der Tuberkulose. Die übrigen 9 wurden hingegen erst in den ersten Lebenswochen festgestellt, und zwar 6 mit Bacillennachweis, 3 ohne denselben.

Verf. glaubt, daß die intrauterine Uebertragung von Mutter auf Kind ein weit häufigeres Vorkommnis sei, als man allgemein annimmt.

J. Heitz[2]), bei dem sich auch die ganze einschlägige französische Literatur vorfindet, nimmt für seinen Fall von intrauteriner Uebertragung von Tuberkelbacillen mit positivem Bacillenbefunde in den intervillösen Räumen der Placenta sowie den Blutgefäßen der Leber an, daß an den fötalen Placentargefäßen irgend welche Epitheldefekte bestanden haben müssen, die er allerdings nicht auffinden konnte.

Er betont, daß zur Fundierung dieser Hypothese weitere Belege sehr erwünscht wären.

Schmorl und Geipel[3]) sind der Ansicht, daß mit dem Nachweis tuberkulöser Veränderungen in der Placenta implicite auch der Beweis dafür erbracht sei, daß eine Infektion des Fötus stattgefunden habe.

Nun stellt nach ihren Untersuchungen die Tuberkulose der Placenta gar kein so extrem seltenes Ereignis dar, wie nach den vorliegenden spärlichen Mitteilungen anzunehmen. Sie selbst fanden die Placenten, die von Fällen mütterlicher Tuberkulose in den verschiedensten Stadien stammten, in 45 Proz. tuberkulös verändert, und mit Recht weisen sie darauf hin, daß von den 19 bis dahin bekannt gewordenen Fällen von Placentartuberkulose 16 durch Schmorl und seine Mitarbeiter beschrieben worden sind.

Ebenso gebührt ihnen unzweifelhaft das Verdienst, festgestellt zu haben, daß nicht nur bei Miliartuberkulose und Fällen weit vorgeschrittener

---

1) Lebküchner, Arb. a. d. pathol.-anat. Institute zu Tübingen. Bd. III. 1902. p. 147.
2) Heitz, J., Revue de Tuberculose. 1902. p. 271.
3) Schmorl u. Geipel, Münch. med. Wochenschr. Jahrg. LI. 1904. p. 1675.

Lungentuberkulose, sondern auch bei nur mäßig entwickelter, ja selbst bei klinisch inzipierter Phthise Placentartuberkulose vorkommen kann.

Trotzdem glauben wir die Vermutung aussprechen zu müssen, daß die große Frequenz der durch Schmorl gefundenen Placentartuberkulose eine zufällig durch sein Material bedingte ist; denn Birch-Hirschfeld[1]) berichtet über eine an akuter Miliartuberkulose gestorbene Gravida, bei deren Fötus — über die Placenta selbst fehlen die diesbezüglichen Angaben — durch Tierimpfung (Uebertragung von Blut und Leberstückchen des Fötus in die Bauchhöhle von Meerschweinchen und Kaninchen) Tuberkelbacillen nicht nachgewiesen werden konnten.

Besonders aber hat Bossi[2]), der neuerdings 12 Placenten und 12 Föten tuberkulöser Mütter untersucht hat, die zur Einleitung des Abortes bezw. der künstlichen Frühgeburt in die Klinik (Genua) gekommen waren, trotz zahlreicher Tierimpfungen dabei nie Tuberkelbacillen nachweisen können. Zu dem gleichen Resultate kam Ascoli (zit. nach Bossi) bei 5 Untersuchungen.

Schlossmann[3]) glaubt, daß die intrauterine Ueberschwemmung der Frucht mit Tuberkelbacillen ein häufiges Vorkommnis sei.

Endlich seien hier noch die im letzten Kongreß der Deutschen Pathologischen Gesellschaft in Stuttgart gemachten Mitteilungen v. Baumgartens und Henkes berücksichtigt. v. Baumgarten tritt für die Verschleppung der Tuberkelbacillen auf dem Blutwege ein und hält die intrauterine Infektion für eine „primäre tuberkulöse Blutinfektion par excellence“.

Henke berichtet über einen interessanten Fall von makroskopisch und histologisch nachweisbarer Tuberkulose der Placenta mit herdförmiger tuberkulöser Endometritis, wobei aber bei dem Fötus weder histologisch noch durch den Impfversuch Tuberkelbacillen nachgewiesen werden konnten.

Bei diesem jetzigen Stande der Lehre der intrauterinen Tuberkuloseübertragung ist es erwünscht, durch genaue Untersuchung geeigneter Fälle sich Klarheit über diese wichtige Frage zu verschaffen. Es sei uns gestattet, folgenden, von uns bearbeiteten Fall hier in aller Kürze mitzuteilen.

Krankengeschichte. Leider ist es uns nicht möglich, eine genaue Krankengeschichte zu bringen, da die betreffende Patientin, die von einem auswärtigen Arzte zwecks Einleitung der künstlichen Frühgeburt in die Straßburger Universitäts-Frauenklinik eingeliefert worden war, kurz nach ihrer Aufnahme in dieselbe starb, bevor ein genauer Status aufgenommen werden konnte. — Alter: 25 Jahre, klinische Diagnose: Tuberculosis chronica pulmonum; graviditas mens. VII.

Sektionsbefund. 144 cm lange Leiche, bedeutend abgemagert, von schwächlichem Knochenbau und schwach entwickelter Muskulatur; Panniculus adiposus. Auftreibung des Unterleibes. Aus den schwach entwickelten Brüsten lassen sich einige Tropfen Collostrum ausdrücken. Haut sehr blaß; einige blasse Hypostasen rückwärts. Totenstarre besteht noch.

Pupillen gleich weit; Haar blond.

Weiche Schädeldecken blutarm. Schädeldach dünn; Andeutung von Osteophyt auf der Innenfläche. Dura mater nicht verdickt; in ihren

1) Birch-Hirschfeld, Zieglers Beitr. Bd. IX. 1890. p. 387.
2) Bossi, Arch. f. Gynäkol. Bd. LXXVII. 1906. p. 21.
3) Schlossmann, Arch. f. Kinderheilk. Bd. XLIII. 1906. p. 99.

venösen Sinus nur flüssiges Blut. Die weichen Hirnhäute ganz dünn, leicht ödematös; nirgends Knötchen in ihnen nachweisbar, speziell nicht in den Fossae Sylvii. Hirnsubstanz blaß, frei von Herden.

Situs viscerum normal; in der Bauchhöhle kein abnormer Inhalt. Zwerchfellstand links IV. Rippe, rechts V. Interkostalraum.

In der Trachea reichlicher Schleim, Schilddrüse nicht vergrößert.

Schleimhaut des Kehlkopfes und des Rachens blaß, frei von Ulcerationen, wie auch die der großen Luftwege.

Rechte Lunge sehr fest mit der Brustwand verwachsen. Beim Loslösen derselben eröffnet sich eine ca. 100 ccm fassende, den größten Teil des Oberlappens einnehmende Kaverne mit teils glatter, teils fetziggrauer Wand, die blutigen Eiter enthält. Der Unterlappen ist ganz durchsetzt von zahlreichen, teils miliaren, teils bis 10 cm großen, tuberkulösen Herden; letztere sind oft zentral erweicht. Die Pleura ist schwartig verdickt; innerhalb der Schwarten sind kleinste Knötchen sichtbar. — Linke Lunge im Bereich der Spitze mit der Brustwand fibrös verwachsen, im Bereich des Unterlappens dagegen frei; aus der Pleurahöhle sind ca. 200 ccm leicht trüber, blutig-seröser Flüssigkeit, in der einzelne Fibrinflocken schwimmen, aufzusammeln. Der linke Oberlappen enthält zahlreiche käsige Herde, in der Spitze eine 30 ccm fassende Kaverne. Im linken Unterlappen sind nur wenige miliare Tuberkel, keine größeren käsigen Herde nachweisbar; die Lungensubstanz ist daselbst größtenteils luftleer, blutreich, manche Bezirke springen auf dem Schnitt vor, bronchio-pneumonische Hepatisationsherde darstellend. Auch hier auf der Pleura miliare Tuberkel. Schleimhaut der Bronchien stark gerötet; in ihrem Lumen blutig-eitriger Schleim.

Bronchialdrüsen bis auf 10 cm vergrößert, schiefrig induriert, stellenweise mit deutlicher Verkäsung.

Herz klein, Myokard sehr blaß, etwas braun, frei von jeglichen Herden. Klappen zart, ohne Auflagerungen oder Verdickung. Leber fettreich, blaß; keine Tuberkel in ihr nachzuweisen. In der Gallenblase spärliche blasse Galle.

Milz mißt 15 × 7 × 4, weich, dunkelrot, mit deutlichen Follikeln; tuberkulöse Veränderungen darin nicht nachweisbar.

Nieren entsprechend groß; Parenchym blaß, gut durchscheinend. Keine Tuberkel darin zu sehen. Ureter und Blase normal.

Magen normal.

Im unteren Ileum, im Coecum und im unteren Teil des Colon ascendens finden sich reichliche, bis markstückgroße, seichte Geschwüre mit tuberkulösen Knötchen am Rande, sowie in der Serosa an der entsprechenden Stelle. Mesenterialdrüsen leicht vergrößert, nicht verkäst.

Uterus mißt unaufgeschnitten 28 × 17 × 8; in demselben ein Kind männlichen Geschlechts in I. Schädellage. Das Aussehen des Uterus ist das eines puerperalen, ohne pathologische Besonderheiten. Die Placenta sitzt breit an der Hinterwand an, nirgends abgelöst, doch leicht abzulösen. Makroskopisch zeigte sie keine tuberkulösen Veränderungen. Der innere Muttermund ist geschlossen. Die Scheidenschleimhaut stark injiziert, viel schmierigen Schleim enthaltend. Tuben und Ovarien sind normal.

Diagnose. Tuberculosis chronica pulmonum et glandularum lymphaticarum bronchialium. Bronchitis; Pneumonia catarrhalis sinistra. Ulcera tuberculosa intestini. Graviditas.

Sektion des Kindes. 35 cm langes, gut entwickeltes Kind männlichen Geschlechts. Haut normal; keine Zeichen von Mazeration. Die

Sektion der inneren Organe zeigt völlig normale Verhältnisse; makroskopisch nirgends irgend welche Zeichen von Tuberkulose zu sehen.

Histologische Untersuchung.

1) Organe der Mutter.

In der ganzen rechten Lunge und im linken Oberlappen fand sich das Bild der typischen chronischen Lungentuberkulose. In dem linken Unterlappen ließ sich eine beginnende katarrhalische Bronchiopneumonie nachweisen, mit reichlicher Fibrinausscheidung und Epitheldesquamation. Daneben waren miliare Tuberkel in dem Parenchym zerstreut. Im Eiter der Kavernen, ferner im Safte des linken Unterlappens ließen sich reichliche Tuberkelbacillen, ferner Strepto- und Staphylokokken, auch vereinzelte grampositive Diplokokken nachweisen.

In Leber, Milz, Nieren konnten keine tuberkulösen Veränderungen gefunden werden, ebenso nicht im Uterus und Tuben. Amyloid bestand nicht.

Die Untersuchung von den verschiedensten Stellen der Placenta ergab ein histologisch völlig normales Bild; nur hier und da zeigten sich kleinste interstitielle Blutungen. Die Wand der Gefäße zeigt keine Besonderheiten.

200 Schnitte, aus allen Teilen der Placenta, wurden auf Tuberkelbacillen untersucht. In einem derselben wurden 2 Bacillen, frei im Blute eines größeren intervillösen Raumes liegend, gefunden, welche als sichere Tuberkelbacillen angesprochen werden konnten. Andere Bakterien, speziell Pneumo-, Strepto- oder Staphylokokken konnten nicht nachgewiesen werden.

2) Organe des Kindes.

Dieselben erwiesen sich als histologisch durchweg normal. Weder Tuberkel, noch irgend welche Spur von Verkäsung, noch fragliche Rundzellenhaufen, noch endlich Tuberkelbacillen konnten trotz sorgfältigster Untersuchung von über 300 Schnitten nachgewiesen werden.

Bakteriologische Untersuchung.

Der Uterus wurde in toto aus der Leiche excidiert, in ein Formalintuch eingeschlagen und unter Beachtung aller aseptischen Kautele nach linearem Absengen der Oberfläche mit einem glühenden Metallstabe durch Fundusschnitt eröffnet.

Der Fötus wurde herausgenommen, abgenabelt und zur Sektion auf einem mit sterilem Tuche überzogenen Holzbrett ausgespannt; die Placenta, die noch überall festsaß, aber sich leicht loslösen ließ, wurde in einer sterilen Schale aufbewahrt.

Ungefähr $^1/_8$ der kindlichen Organe wurde zu Schnitten eingebettet; der Rest wurde jeweils mit steriler physiologischer Kochsalzlösung in sterilem Mörser zu einem möglichst feinen Brei zerrieben. Von diesem Organbrei erhielten Meerschweinchen je $^1/_2$ ccm bezw. 1 ccm subkutan sowohl wie intraperitoneal, so daß im ganzen von jedem Organe (Leber, Milz, Lungen, Nieren) 4 Tierchen geimpft werden.

Ebenso wurden verschiedene Stücke aus der Placenta herausgeschnitten, im sterilen Mörser zermalmt und damit 4 Meerschweinchen wie oben gespritzt. Endlich erhielten noch 2 Meerschweinchen je 1 ccm von dem aus der Placenta nach einiger Zeit in die Glasschale ausgeflossenen Blute (maternes Blut!) subkutan bezw. intraperitoneal.

Der Rest des Placentarbreies sowie der Organaufschwemmungen, die sich kulturell durchweg als vollkommen steril erwiesen, wurde unter

Zusatz von gleichen Teilen 2 ‰ Kalilauge gekocht und 2 Stunden lang zentrifugiert. Das Zentrifugat wurde auf Objektträger ausgestrichen zur direkten mikroskopischen Untersuchung.

Während sich bei den Placentarausstrichen fast auf jedem Objektträger einige, wenn auch nur ganz wenige Tuberkelbacillen nachweisen ließen, war unser Suchen nach Kochschen Stäbchen in den Organpräparaten vollkommen vergeblich.

Dieses Resultat wurde durch die Tierversuche aufs schönste bestätigt. Die mit dem mütterlichen Blute sowie dem Placentarbrei infizierten Tiere gingen alle innerhalb 3 bis 9 Wochen an disseminierter Tuberkulose ein; in den tuberkulösen Herden ließen sich massenhaft Tuberkelbacillen nachweißen.

Die übrigen Meerschweinchen blieben am Leben, mit Ausnahme von zweien, die an nicht festzustellender Todesursache das eine nach 8 Tagen, das andere nach 10 Wochen verendeten. Die Sektion der 3 Monate nach der Impfung getöteten Tiere ließ nirgends eine Spur von Tuberkulose erkennen.

Irgendwelche auf eine Mischinfektion hinweisende Bakterien (Pneumo-, Strepto-, Staphylokokken) konnten in dem Placentarblute weder mikroskopisch noch kulturell nachgewiesen werden.

Wir haben also hier einen Fall von vorgeschrittener Schwangerschaft vor uns bei einer an Lungenphthise gestorbenen Mutter. Der unerwartet schnell eingetretene Tod derselben ist auf einen akuten Nachschub der chronischen Lungenaffektion zurückzuführen, derart, daß durch eine hinzugetretene katarrhalische Pneumonie auch der bis dahin noch freie linke Unterlappen außer Funktion gesetzt wurde.

Eine Generalisierung der Tuberkulose im anatomischen Sinne außerhalb des Respirationsapparates hatte nicht stattgefunden. Dagegen kreisten Tuberkelbacillen im mütterlichen Zirkulationsapparate und konnten von uns im zentrifugierten Preßsaft der Placenta sowie im Schnittpräparat in den intervillösen Placentaräumen nachgewiesen werden. Eine anatomische Tuberkulose der Placenta bestand dagegen nicht, ferner konnte keine Läsion der Gefäßwände oder des Zottenepithels aufgefunden werden.

Der Fötus erwies sich sowohl mikroskopisch wie auch durch zahlreiche Tierexperimente frei von Tuberkulose und Tuberkelbacillen; 16 Impfversuche mit verschiedenen Organen des Fötus fielen negativ aus. Es ist also hier das Kind trotz letaler Tuberkulose der Mutter und trotz der Anwesenheit von Tuberkelbacillen im maternellen Anteil der Placenta nicht infiziert, und dies fast am Ende der Schwangerschaft!

Dieser Befund scheint von vornherein nichts Neues zu bieten. Wir halten jedoch die Veröffentlichung unseres völlig einwandsfrei untersuchten Falles deshalb für wichtig, weil wir ihn der in neuerer Zeit entschieden immer mehr ausgesprochenen Ansicht entgegenhalten möchten, daß eine intrauterine Uebertragung der Tuberkulose ein häufiges Vorkommnis sei.

Wir heben hervor, daß in allen Fällen von sicherer intrauteriner Tuberkulose des Fötus die Placenta anatomische Tuberkulose darbot. Der Angabe von Kokkel und Lungwitz[1]), daß ein direkter Ueber-

1) Kokkel und Lungwitz, Zieglers Beitr. Bd. XVI. 1894. p. 294.

tritt von Tuberkelbacillen, „auch durch das unverletzte Zottenepithel und ohne daß dabei Leukocyten mitspielen", angenommen werden darf, müssen wir auf Grund unseres Untersuchungsresultates entschieden widersprechen; denn eine systematische Untersuchung der ganzen Placenta haben diese Autoren nach ihren Angaben offenbar nicht vorgenommen; sie können deshalb kleinste Läsionen der Gefäßwände, durch die eine Einwanderung in die Chorionzotten stattgefunden hat, leicht übersehen haben. Sind doch auch bei dem ersten exakt wissenschaftlich beobachteten Fall sicheren Uebertritts der Tuberkelbacillen von Mutter auf Fötus durch Schmorl und Birch-Hirschfeld[1]) erst nachträglich die tuberkulösen Herde in der Placenta entdeckt worden!

Wir pflichten daher durchaus der Ansicht von Birch-Hirschfeld bei, daß „die physiologische Placenta ein Filter von größter Vollkommenheit" darstellt.

Einen Uebertritt der Tuberkelbacillen von Mutter auf Kind halten wir nur dann für möglich, wenn die Placenta tuberkulöse Veränderungen zeigt und durch diese tuberkulösen Herde die fötalen Gefäße in Mitleidenschaft gezogen sind. Den Zusatz dieses letzten Postulats halten wir deshalb für besonders wichtig, weil nach den Beobachtungen von Seitz[2]) und Henke[3]) Tuberkulose der Placenta bestehen kann, auch ohne daß dadurch der Fötus eo ipso infiziert wird.

Welche Momente für die Ansiedelung von Tuberkelbacillen und damit für das Zustandekommen tuberkulöser Veränderungen in der Placenta verantwortlich gemacht werden müssen, wird nur an einem großen Materiale entschieden werden können.

Nicht undenkbar erscheint uns die Annahme, daß wir in der die Tuberkulose so oft begleitenden Sekundärinfektion einen der Faktoren zu erblicken haben, die ein Versagen des Filtrationswerkes in die Wege leiten.

Denn wenn auch durch die schönen Untersuchungen Birch-Hirschfelds[4]) „Ueber die Pforten der placentaren Infektion des Fötus" sicher erwiesen sein dürfte, daß ein Einwandern der Erreger von akuten Infektionskrankheiten durch die unversehrten Choriongefäße in der Regel nicht vorkommt, so läßt doch dessen Angabe, daß bei Keimen, die sich im Blute sehr rasch vermehren, wohl einmal ein „Durchwachsen" des Placentarfilters auf dem Wege der „Haftzotten" beobachtet werden kann, ähnlich wie es für die Tonkerzenfilter nachgewiesen ist, im Verein mit der statistisch festgestellten Tatsache, daß bei Eiter- und Sepsiserregern eine intrauterine Infektion gar nicht so selten beobachtet wird [Malvoz[5]), Lubarsch[6]), Netter[7]), E. Levy[8]), Fränkel und Kiderlen[9]), Freund und Levy[10]), Champ[11])], so läßt also diese Angabe die Annahme eines prädisponierenden Einflusses einer etwaigen

1) Schmorl und Birch-Hirschfeld, Zieglers Beiträge. Bd. IX. 1890. p. 428.
2) Seitz in Winckels Handb. d. Geburtsh. Bd. II. 2. Teil. 1904. p. 1164 ff.
3) Henke, Verhandlg. d. 74. Naturforscherversammlung in Stuttgart, Sept. 1906.
4) Birch-Hirschfeld, Zieglers Beiträge Bd. IX. 1890. p. 387.
5) Malvoz, Ann. a. l'Inst. Past. II. 1888. p. 121.
6) Lubarsch, Virch. Arch. Bd. XXIV. 1891. p. 47.
7) Netter, C. R. Soc. a Biol. 1889.
8) E. Levy, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXVI. 1890. p. 1557.
9) Fränkel und Kinderlen, Fortschr. a. Med. Bd. VII. 1889.
10) H. W. Freund und E. Levy, Berl. kl. Wochenschr. 1845.
11) Champ, De la variola congenitale. Thèse de Paris, 1901.

Mischinfektion für die Schaffung von Gewebsläsionen in der Placenta keineswegs als unberechtigt erscheinen.

Dem Fehlen derartiger Begleitbakterien in unserem Falle die wirksame Filtration der Tuberkelbacillen zuschreiben zu wollen, wäre natürlich verfrüht, aber unsere Beobachtung dürfte doch eine Anregung dazu geben, bei künftigen Untersuchungen auch dieser Frage die nötige Aufmerksamkeit zu schenken.

Endlich möchten wir im Gegensatz zu Schmorl auf die Notwendigkeit von Impfversuchen mit dem tuberkuloseverdächtigen Materiale hinweisen; denn bei spärlicher Anwesenheit von Tuberkelbacillen bietet die histologische Untersuchung nicht nur enorme Schwierigkeiten, sondern sie gewährt auch eine geringe Zuverlässigkeit. Hingegen dürfte es bei ausgiebig angestellten Tierversuchen sehr schwer sein, auch minimale Mengen von Tuberkelbacillen zu übersehen.

Der Einwand, daß ein nicht unbeträchtlicher Prozentsatz der Meerschweinchen in Laboratorien an Spontantuberkulose erkrankt [A. Wassermann[1])] und daß dadurch die Impfversuche entwertet würden, ist nach vielseitigen Beobachtungen erfahrener Bakteriologen durchaus unangebracht; denn einmal ist ein spontanes Eingehen von Meerschweinchen an Tuberkulose ein durchaus seltenes Vorkommnis. So hat Herr Prof. Forster im Amsterdamer hygienischen Institut [s. De Man[2])] niemals einen Fall von spontaner Tuberkulose beim Meerschweinchen wahrgenommen. Auch Herr Prof. E. Levy hat bei seinen langjährigen Tuberkuloseuntersuchungen im hiesigen Institut nur einen einzigen Fall zu verzeichnen. Aber selbst diesen Ausnahmefall zugegeben, so kann man doch aus der Erwägung, daß der Inokulationsort der evidente Ausgangspunkt der diagnostisch zu verwertenden experimentellen Tuberkulose sein muß, Fehlschlüsse mit Sicherheit vermeiden.

Die Frage der Häufigkeit tuberkulöser Veränderungen in der Placenta steht u. E. noch durchaus offen. Die Angaben Schmorls und Geipels einerseits, Bossis und Ascolis andererseits stehen in schärfstem Widerspruch. Der Nachweis von Tuberkelbacillen im Placentarsaft bei Fehlen jeglicher histologischer Veränderungen des Placentargewebes beweist selbstverständlich noch keineswegs eine Tuberkulose der Placenta.

Sind im mütterlichen Blut Tuberkelbacillen vorhanden, so ist es natürlich, daß sie auch in dem so blutreichen maternellen Anteile der Placenta gefunden werden müssen. Die Berechtigung der Vermutung von Seitz (l. c. p. 1168), daß in der großen Mehrzahl aller Tuberkulosen die Bacillen wohl überhaupt nicht in die intervillösen Räume hineingelangen, ist durchaus nicht einzusehen; jedenfalls widerspricht diese Hypothese direkt unserer Beobachtug.

Fernere histologische Untersuchungen zwecks Entscheidung der Frage, wann eine Placenta für Tuberkelbacillen durchgängig wird, d. h. welche Veränderungen dazu in ihr Platz greifen müssen, sind von dem einen von uns in Arbeit genommen und werden demnächst mitgeteilt werden.

---

1) Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. I. p. 388.
2) De Man, Arch. f. Hygiene Bd. XVIII. 1893. p. 149.

Ueber das Eiweissabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter und dessen Antitoxin.

[Aus dem hygien.-bakt. Institute der Universität Erlangen (Direktor: Prof. Dr. Heim).]

Von Privatdozent Dr. **Wolfgang Weichardt.**

Mit 2 Kurven.

Wie in verschiedenen Veröffentlichungen niedergelegt ist, gelang es Verf., eine für physiologische und pathologische Zustände wichtige, zu den Eiweißabspaltungsantigenen gehörende Gruppe aufzufinden, das Ermüdungstoxin (1).

Dieses ist, wie schon früher festgelegt worden (1), charakterisiert durch seine spezifische Wirkung auf den tierischen und menschlichen Organismus. Bei kleineren Tieren in genügender Menge injiziert, veranlaßt das reine Ermüdungstoxin Verlangsamung der Atmung und Niedergang der Temperatur. Das Tier verendet bei tödlicher Dosis nach relativ kurzer Latenzzeit. Das Herz schlägt noch weiter, wenn die verlangsamte Atmung bereits zum Stillstand gekommen ist. Ganz besonders bemerkenswert ist es, daß mit nicht allzuhohen Dosen reinen Ermüdungstoxins injizierte Warmblüter unter äußerst verlangsamter Atmung bei überaus niedriger Körpertemperatur (bei 20—25°) viele Stunden lang leben können.

Dieses Ermüdungstoxin wird auch dadurch charakterisiert, daß es in geringer, die tierischen Zellen nicht schädigender Menge einverleibt, nach kurzer Latenzzeit aktive Immunität des injizierten Tieres hervorruft, und zwar in dem Sinne, daß die Leistungsfähigkeit des Tieres gesteigert wird.

Am besten nachzuweisen ist diese Steigerung der Leistungsfähigkeit an Kymographionkurven von Mäusen.

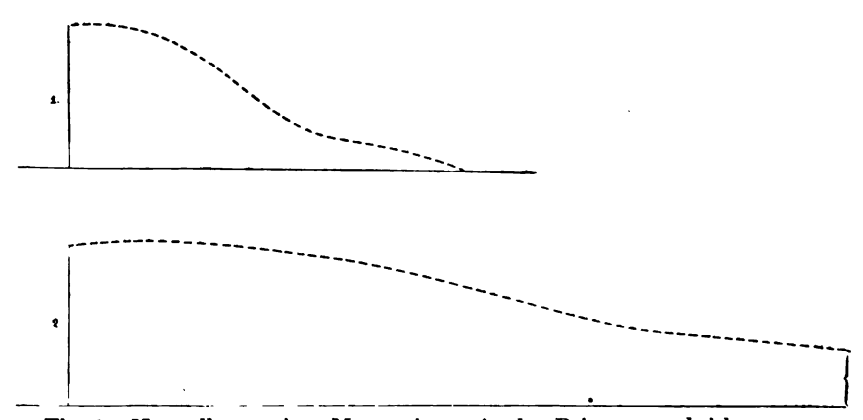


Fig. 1. Normalkurve einer Maus mit maximaler Reizung geschrieben.

Fig. 2. Die Kurve einer gleich großen, mit Ermüdungstoxin aktiv immunisierten Maus unter gleichen Bedingungen geschrieben.

Die Kymographionkurven dieser beiden Mäuse sind nicht ausgeschrieben dargestellt, sondern es wurden die Spitzen der durch kurzdauernde Tetani hervorgerufenen Zuckungen durch Linien verbunden. Technik s. in meinen serolog. Studien (Literaturverz. No. 1).

Beide Kurvenbilder sind auf 1/3 verkleinert.

Vergl. die beiden vorstehenden Kurven, die mittels der schon früher beschriebenen Technik (1) gewonnen sind.

Dieses Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter wird ferner beeinflußt durch ein spezifisches Antitoxin, das sich nach Injektion des Antigens im tierischen Organismus bis zu einem gewissen Grade anhäuft. Dieses Antitoxin ist aber auch in vitro darstellbar, und zwar durch Erschütterung von Eiweißmolekülen bei höherer Temperatur mittelst physikalischer oder chemischer Einflüsse der allerverschiedensten Art (3).

Geschieht dagegen die Erschütterung der Eiweißmoleküle bei gewöhnlicher Temperatur, so bildet sich das oben beschriebene Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter (Ermüdungstoxin).

Bemerkenswert ist das grundverschiedene Verhalten dieses einfachsten Antigens und des dazu gehörigen Hemmungskörpers (Ermüdungsantitoxins).

Während das Ermüdungstoxin noch sehr hochmolekular ist und den Kolloiden zugerechnet werden muß, — denn es ist im gewöhnlichen Sinne nicht dialysabel —, in ganz wasserfreiem Aceton ist es nicht löslich, zeichnet sich der dazu gehörige Hemmungskörper durch leichte Dialysierbarkeit und Acetonlöslichkeit aus.

Uebrigens hat sich im Verlauf zahlreicher Untersuchungen herausgestellt, daß die lebende intakte Zelle — so die des Magens — imstande ist, auch das durch tote tierische Membranen nicht dialysable Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter so zu resorbieren, daß schon relativ kurze Zeit nach dessen Aufnahme charakteristische spezifische Ermüdungswirkungen zu beobachten sind.

Es konnte ferner dargetan werden, daß dieses Eiweißabspaltungsantigen dem bei der Ermüdung der Warmblüter sich bildenden Toxin in seiner biologischen Wirkung gleicht, aber es tritt auch als Teilgift bekannter Toxinkomplexe in Erscheinung. So z. B. im Giftkomplexe des Schlangengiftes, sowie im Tuberkelbacillenendotoxin (3). Ueberhaupt kommt, wie Verf. schon früher dargelegt hat, diesem wohlcharakterisierten Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter und seinem Antitoxin eine außerordentliche Verbreitung zu, sowohl im Tierreiche, als auch, wie wir später sehen werden, im Pflanzenreiche.

Das Eiweißabspaltungsantigen wurde zunächst aus den Muskeln hochermüdeter Tiere gewonnen, und zwar mittelst einer ganz besonderen, im Verlaufe und auf Grund zahlreicher, sehr verschiedener Versuche vom Verf. erst entwickelten Methodik.

Es ergab sich nämlich, daß mit dem seither üblichen Ermüdungsmodus im Laufapparate toxische Substanzen absolut nicht zu erzielen waren (4). Die laufenden Tiere werden nur schwer erschöpft, nicht eigentlich ermüdet, wie es zwecks Herstellung des Toxins unumgänglich notwendig ist. Sie legen sich auf die Seite oder fallen auf den Rücken und erholen sich dann in dieser Ruhelage unter Umständen sogar etwas. Schließlich werden sie mehr durch Nahrungsmangel geschädigt als durch Ermüdung (5).

Als die bei weitem beste Methode reiner Ermüdung mit guter Ausbeute von Ermüdungstoxin aus dem aseptisch ausgepreßten Muskelplasma stellte sich heraus: Betäuben der Tiere mit Kohlenoxyd und Faradisieren der Gesamtmuskulatur im luftverdünnten Raume.

Hierbei entsteht toxinhaltiges Muskeleiweiß, das vom größten Teil der Salze und der Substanzen des Eiweißabbaus durch Dialyse gegen destilliertes Wasser gereinigt werden, und aus dem nun durch Zumischen von Chlorwasserstoffsäure und dann von Aetznatron bis zur genauen Neutralisation (Lackmusblau) ein Teil des Eiweißes noch ausgeflockt werden kann. Das Endprodukt, im Vakuum abgedunstete, in Wasser leicht lösliche Schüppchen, ein Gemisch von Ermüdungstoxin und Muskeleiweiß, ist nur mäßig toxisch. Deshalb wurde zur Bestimmung der Wertigkeit dieser toxischen Substanz von der Dosis letalis abgesehen und auf Grund zweier Methoden, die früher genauer beschrieben worden sind (1), stets der ermüdende Wert festgestellt.

Eine dem Ermüdungstoxin gleich wirkende toxische Substanz und deren Hemmungskörper konnten, wie schon erwähnt, auch in vitro aus Eiweiß hergestellt werden.

Was den durch Eiweißabspaltung entstehenden Hemmungskörper (Antitoxin) betrifft, so zeichnet er sich durch Dialysierbarkeit aus und ist, wie sich aus seiner Bildung bei erhöhter Temperatur ergibt, thermostabil. Nicht nur das in vitro hergestellte Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter wird von ihm beeinflußt, sondern er hemmt auch das genuine aus Ermüdungsmuskelpreßsaft hergestellte Toxin. Ferner wirkt er auch gegen das im tierischen Körper, namentlich bei Muskelbewegung entstehende Ermüdungstoxin, sowie auch gegen das im Tierkörper nach Injektion von wirksamem kolloidalem Palladium[1]) entstehende (3). Auch wurden von unserem Hemmungskörper unter ganz bestimmten Verhältnissen gewisse Giftkomplexe so beeinflußt, daß dadurch der Beweis erbracht werden konnte, daß das Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter ein Teilgift dieser Giftkomplexe, z. B. der Tuberkelbacillenendotoxine und des Schlangengiftes ist.

Schon die Ergebnisse von Versuchen mit Tuberkulin an unvorbehandelten und an mit dem Hemmungskörper immunisierten Mäusen deuteten hierauf hin. Wurden nämlich Mäuse mit kleinen Quantitäten Tuberkulins subkutan oder intraperitoneal wiederholt injiziert, so verendeten die unvorbehandelten Mäuse, und zwar unter Erscheinungen, die den durch das Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter veranlaßten glichen — Verminderung der Körpertemperatur, Verlangsamung und endlich Aufhören der Atmung — während die mit dem Ermüdungsantitoxin immunisierten Tiere am Leben blieben. Allerdings besteht bei diesen Versuchen eine nicht geringe experimentelle Schwierigkeit darin, durch genaue Dosierung die Wirkung des Eiweißabspaltungsteilgiftes zu summieren, zugleich aber auch zu vermeiden, daß die Reizschwelle anderer, namentlich krampferregender Komponenten des Giftkomplexes nicht überschritten wird.

Besonders bei Versuchen mit dem Schlangengiftkomplex gelang das recht schwierig. Hier erwies sich zunächst das Conjunctivalfilter als Hilfsmittel, dessen man sich bei wiederholtem Einbringen kleiner nicht tödlicher Dosen des Schlangengiftes bedienen konnte. Wurde hierbei durch vorsichtiges Dosieren die krampferregende Wirkung des Schlangengiftes vermieden, so trat der Unterschied zwischen unvorbehandelten und mit dem Hemmungskörper immunisierten Mäusen deutlich in Erscheinung.

---

1) Dem kolloidalen Palladium ähnlich wirken manche Schlafmittel. Allerdings treten hierbei auf direkt chemische Wirkungen zu beziehende Nebenerscheinungen auf, die dem reinen kolloidalen Palladium fehlen.

Noch günstiger waren die Ergebnisse von Experimenten, die angestellt wurden auf Grund von Kymographionversuchen, aus denen sich ergeben hatte, daß das durch tote Membranen nicht dialysierende Ermüdungstoxin von den lebenden Zellen des Magens aufgenommen wird: Hatte Verf. Versuchstieren größere Dosen Ermüdungstoxin per os einverleibt, so konnte durch den Ausfall der Kymographionkurven (1) nachgewiesen werden, daß das Ermüdungstoxin tatsächlich durch die Magenwand aufgenommen wird und deutlich ermüdend wirkt.

Wurden nun Mäusen wiederholt geringe Dosen des Schlangengiftes per os beigebracht, so traten Ermüdungserscheinungen ebenfalls ein, bei den mit unserem Hemmungskörper immunisierten Tieren jedoch nicht. Noch besser gelang der Versuch nach Einbringen des Schlangengiftes in das Rectum von Mäusen.

Doch waren die tödliche Krämpfe bedingenden Komponenten unseres Schlangengiftes, welche durch den Hemmungskörper nicht abgesättigt werden können, nicht immer vollkommen auszuschalten. Deshalb wurde der Versuch gemacht, diese Komponenten durch spezifisches Serum bei den Versuchstieren schon vorher abzusättigen; und zwar geschah dies durch Injektion der Versuchsmäuse mit Serum antivenimeux, das mir von Herrn Prof. Calmette in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt worden war.

Nun konnte Kobragift ohne Gefahr in größerer, vielfach tödlicher Dosis den Mäusen per rectum beigebracht werden; denn gegen Krämpfe waren ja nunmehr die Tiere hinreichend geschützt, sowohl die unvorbehandelten, als auch die, denen der Hemmungskörper vorher per os beigebracht worden war.

Diese Versuchsanordnung erwies sich als eine ganz besonders zweckmäßige; denn die mit dem Hemmungskörper und dem Serum vorbehandelten Mäuse blieben vollkommen intakt und munter, die anderen dagegen, welche mit dem Hemmungskörper nicht vorbehandelt, sondern nur mit dem Calmetteschen Serum geschützt waren, wurden nach Einbringen sehr großer Dosen Cobragiftes in das Rectum soporös, ihre Temperatur sank erheblich, die Atmung verlangsamte sich und sie verendeten nach wenig Stunden unter den Erscheinungen der Ermüdungsintoxikation.

Aus diesen Versuchen ergibt sich mit voller Sicherheit, daß unser Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter ein Teilgift auch von wasserlöslichen Toxinen ist.

Ferner ergibt sich aus diesem Versuche, daß auch die durch Injektion von Tieren mit solchen wasserlöslichen Toxinen gewonnenen antitoxischen Sera nicht gleichmäßig gegen alle Teilgifte dieser Toxine eingestellt sind.

Schon oben ist erwähnt, daß sich im Serum der Injektionstiere Antitoxin gegen Ermüdungstoxin nur in mäßiger Menge anzuhäufen pflegt, da der Organismus der Warmblüter nur auf einen gewissen Gehalt derartigen Antitoxins eingestellt ist. Ein Ueberschuß desselben wird, wie Verf. nachgewiesen hat, durch die Nieren ausgeschieden.

Also haben alle antitoxischen Sera, obgleich bei ihrer Herstellung den Tieren reichlich Ermüdungstoxin wiederholt mit injiziert wird, einen relativ geringen Gehalt des auf Ermüdungstoxin eingestellten Antitoxins.

Vielleicht ist diese Tatsache einer der Gründe, daß unter Umständen selbst antitoxische Sera nicht voll wirken, da sie dieses, wenn auch

nicht allzu heftig, so doch unter Umständen tödlich wirkende Teilgift der betreffenden Giftkomplexe, das Ermüdungstoxin, nicht ganz treffen. Das wird vor allem bei Individuen der Fall sein, bei denen eine physiologische Antitoxinbildung gegen das Ermüdungstoxin eine geringe ist. Doch soll dieser Punkt erst später eingehender erörtert werden.

Also, um nochmals diese Versuchsanordnung kurz zusammenfassend zu charakterisieren: Es wird den Versuchsmäusen, welche alle durch subkutane Injektion von Antivenin unter die Rückenhaut gegen die Krampfkomponenten des Schlangengiftes gut geschützt sind, Schlangengift in das Rectum gebracht. Ein Teil der Mäuse ist mit einer geringen Menge des Hemmungskörpers gefüttert, so daß sich also die Lösungen der aufeinander wirkenden Substanzen in den Körpersäften selbst erst begegnen und dort erst aufeinander einwirken können. Der Einwurf, daß es sich bei unserer Antitoxinwirkung um Adhäsionsvorgänge nicht spezifischer Art handeln könne, ist somit auszuschließen.

Nachdem allmählich mehr und mehr festgestellt worden war, daß unser Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter im Tierreiche außerordentlich verbreitet ist, lag es also nahe, seine Anwesenheit auch in rein pflanzlichen Produkten nachzuweisen, und zwar wurde zunächst das Opium untersucht, da dessen Eiweißgehalt zu 5 Proz. im Mittel angegeben wird.

Als Ausgangspunkt für diese Versuche, die ich in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Stadlinger in Erlangen ausgeführt habe, diente frisches Sleeping-Opium, für dessen reichliche Ueberlassung wir der Firma Gehe & Co. in Dresden zu großem Danke verpflichtet sind.

Schon einige Vorversuche des Verf. mit noch alkaloidhaltigem Opium ergaben zur Evidenz, daß mit dem Hemmungskörper gefütterte Mäuse einen gewissen Schutz gegen größere Opiumgaben erlangten. Immerhin erschien es dringend, das Opium zunächst von Alkaloiden zu befreien. Hierzu waren quantitativ fällende Alkaloidreagentien zu verwenden, deren Ueberschuß selbst leicht wieder aus den Opiumauszügen zu entfernen war. Die Anwendung von Schwefelwasserstoff, starken Alkalien und erhöhter Temperatur waren zu vermeiden. Endlich waren die in Lösung befindlichen Salze durch Dialyse wieder rasch zu entfernen; lange Dialyse vermehrt bekanntlich die Gefahr bakterieller Verunreinigungen, ferner sind mit langer Dialyse Toxinverluste verknüpft, obgleich das Toxin im gewöhnlichen Sinne nicht dialysabel ist; denn selbst wenn man sich von der absoluten Dichtigkeit der mit Wasser gefüllten Dialysatoren über trockenem Fließpapier überzeugt hat, treten doch noch immer Toxinverluste bei sehr langdauernder Dialyse ein.

Anfängliche Fällungsversuche mit Bleiacetat und Gerbsäure erwiesen sich zunächst als zu umständlich. Gute Resultate erhielten wir nur mit dem als Alkaloidfällungsmittel sehr geschätzten Jodjodkalium, das nach den Arbeiten, vor allem von Kippenberger (6) die vollständigste Entfernung der Alkaloide gewährleistet. So hatte sich ergeben, daß z. B. Codein, Papaverin und Thebain, jene im Opium in relativ geringer Menge vorhandenen Alkaloide, durch Jodjodkalium noch in Verdünnungen von 1:40000—50000 erkannt werden, während mit Hilfe von Gerbsäure Codein nur mehr in Verdünnung von 1:10000, Papaverin in Verdünnung von 1:50000 und Thebain von 1:10000 nachgewiesen werden kann.

Auf die Einzelheiten dieser Arbeitsmethode für den vorliegenden

Zweck soll an anderer Stelle[1]) des Genaueren eingegangen werden. Hier sei nur noch erwähnt, daß die durch anhaltendes Schütteln mit metallischem Quecksilber von Jod befreite, durch Opiumfarbstoff etwas gefärbte, völlig klare Lösung im hohen Vakuum mehrfach konzentriert und in vollständig dichten Dialysatoren mit großer Oberfläche wiederholt dialysiert wurde, bis die Prüfung die vollkommene Abwesenheit von Kaliumjodid ergab. Zuletzt wurde die Flüssigkeit im hohen Vakuum noch zum Trocknen gebracht.

Das erhaltene Pulver stellte ein reines Ermüdungstoxin dar. Per os beigebracht bewirkte es bei den Tieren deutliche Ermüdung, injiziert wirkte die Lösung dieses Opiumreintoxins ohne jede Nebenerscheinung ebenfalls ermüdend, stark temperaturherabsetzend und atemverlangsamend. Die Atmung stand schließlich still und das Herz schlug noch etwas weiter. Besonders bemerkenswert ist, daß mit diesem reinen Ermüdungstoxin injizierte Mäuse, denen vorher ganz geringe Dosen des Ermüdungsantitoxins per os beigebracht worden waren, keine Ermüdungserscheinungen zeigten und am Leben blieben.

Wir sehen also, daß auch Pflanzen unser Ermüdungstoxin hervorbringen können und zwar sehr rein, sowie relativ leicht trennbar von den Alkaloiden, die ja viel weiter abgebaut sind als die ebenfalls hochmolekularen neben dem Ermüdungstoxin in anderen tierischen Giftkomplexen vorkommenden, daher schwerer trennbaren Stoffe.

Es dürfte die durch die Praxis schon lange bekannte besondere Wirkung des Opiums, der Wirkung seiner Alkaloide gegenüber, zum großen Teil auf diesen Gehalt von Ermüdungstoxin zurückzuführen sein.

Es wurde ferner versucht, das Ermüdungstoxin auch noch aus anderen, ähnlichen Drogen darzustellen. Das gelang z. B. aus uns ebenfalls von Gehe & Co. freundlichst zur Verfügung gestellten grünen Mohnköpfen, nach Entfernung der Alkaloide, und zwar zeigte die quantitative Ausbeute an diesen Toxinen, daß sie schon in größerer Menge in der Pflanze vorgebildet sein mußten.

Bekanntlich spielen die Mohnköpfe in der Volksmedizin bei Bereitung von Schlaftee für Säuglinge eine unheilvolle Rolle. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß neben den Alkaloiden hier vor allem der Ermüdungstoxingehalt deletär wirkt, namentlich da bei den Säuglingen gerade die Antitoxinbildung gegen dieses gleichsam physiologische Gift, gegen das Ermüdungstoxin, eine recht geringe zu sein scheint.

Bei dieser Gelegenheit mag nicht unerwähnt bleiben, daß Verf. schon früher darauf aufmerksam gemacht hat, wie auch aus Eiweißmolekülen der Milch durch Elektrolyse und chemische Erschütterungen bei gewöhnlicher Temperatur geringe Mengen des Eiweißabspaltungsantigens von Ermüdungstoxincharakter gebildet werden. Verf. untersuchte z. B. wiederholt Formalinmilch auf Ermüdungstoxin. Er fand dieselbe in der Regel etwas toxinhaltig, somit als Säuglingsmilch zu verwerfen. Auch die Desinfektion der Milch z. B. mit Wasserstoffsuperoxyd und anderen chemischen Mitteln, welche Erschütterung der Eiweißmoleküle in der Kälte zu bewirken geeignet sind, ist sicherlich, falls die betreffende Milch als Säuglingsmilch dienen soll, aus demselben Grunde nicht einwandsfrei. Falls demnach die Milch überhaupt sterilisiert werden muß, so ist nach den Ergebnissen meiner Ermüdungstoxinstudien die klassische Methode des Sterilisierens durch Hitze bei weitem vorzuziehen.

1) Biochem. Zeitschr. 1907.

Außer im Opium konnte auch noch in anderen Drogen Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter nachgewiesen werden, so z. B. im Curare, Lactucarium u. a.

Im Widerspruch zu den bisherigen Erfahrungen über die Natur des Ermüdungstoxins schien die Auffindung desselben in den Exkreten der Warmblüter zu stehen. Denn das Ermüdungstoxin ist ja, wie wir gesehen haben, durch tote tierische Membranen nicht dialysabel. Ferner mußte das isolierte Vorkommen des Ermüdungstoxins in den Exkreten um deswillen besonders auffallen, weil ja, wie später noch des genaueren erörtert werden soll, erhebliche Toxinwirkungen mit ganz minimalen Antitoxinmengen aufgehoben werden können. Somit waren diese unerwarteten Befunde von Ermüdungstoxin im Harn, Kot, Speichel und Schweiß zunächst zu registrieren. Wir müssen uns die Vorstellung bilden, daß lebende Zellfilter die Verbindung: Toxin-Antitoxin zu sprengen im stande sind, dabei aber das Antitoxin dem Körper erhalten, während Toxin ausgeschieden wird[1]).

Am besten gelingt die Reindarstellung des Ermüdungstoxins aus den Exkrementen gut und anhaltend fliegender, daher viel Ermüdungstoxin bildender Vögel, z. B. von Feldtauben. Durch geeignete Fällungsmittel und mit Hilfe der Dialyse gelingt es sehr viel leichter als aus den bisherigen Fundstätten, z. B. aus dem Opium, das Ermüdungstoxin von den in ersterem Falle gerade sehr heterogenen und leicht trennbaren Verunreinigungen abzuscheiden:

Eine größere Menge frischer Taubenexkremente wird mit Wasser extrahiert, filtriert, und das Filtrat mit Bleiessig so lange versetzt, bis Fällung nicht mehr auftritt. Unser Ermüdungstoxin zeigt, wie schon früher bei der Darstellung desselben aus den Muskeln hochermüdeter Warmblüter sich ergeben hat, durchaus nicht die Tendenz, beim Ausflocken mitgerissen zu werden, es bleibt vielmehr in Lösung (cf. Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 26).

Die voluminösen Niederschläge des Bleiacetates werden trocken genutscht und das Blei aus dem Filtrat durch Zusatz von Natriumphosphat im Ueberschuß entfernt. Man filtriert dann wiederum und engt das Filtrat im hohen Vakuum bis auf $^1/_4$ seines Volumens ein, läßt das Natriumphosphat in der Kälte auskristallisieren und nutscht die Flüssigkeit kalt von den Kristallen ab. Die so gewonnene klare, bräunlich gefärbte Mutterlauge wird dann im dichten Dialysator gegen fließendes kaltes Wasser 15 Stunden dialysiert, filtriert, abermals im hohen Vakuum eingeengt und nochmals dialysiert, bis die Salze entfernt sind. Dann wird nochmals filtriert und die reine Ermüdungstoxinlösung im hohen Vakuum bei niederer Temperatur rasch zur Trockene gebracht.

Ist die Darstellung ohne Störung verlaufen, so bewirkt das Reintoxin Ermüdungserscheinungen ohne jede Nebenwirkung: Höhere Dosen töten die Tiere unter Niedergang der Temperatur bis 30° und darunter, und zwar unter Verlangsamung der Atmung bis zum Stillstand derselben, während das Herz noch weiter schlägt. Andere Erscheinungen, z. B. Krämpfe, dürfen dabei nicht auftreten. Namentlich aber müssen sehr geringe Mengen des spezifischen Antikörpers (schon 0,00005), der Versuchsmaus vor der Injektion gefüttert, im stande sein, die Wirkung des Reintoxins vollständig aufzuheben.

1) Diese Vorstellung konnte inzwischen experimentell bestätigt werden.

Nunmehr sind wir endlich, nach mannigfachen Versuchen, in der Lage, ein streng charakterisiertes, jederzeit leicht herzustellendes Testermüdungstoxin zur Verfügung zu haben. Nunmehr erst ist eine ganz sichere Basis vorhanden, ein Testobjekt, mit Hilfe dessen Eiweißabspaltungsantigene auch anderen Charakters wie unser Ermüdungstoxin beurteilt werden können. Vor allem aber wird es von jetzt an unumgänglich nötig sein, an den verschiedensten Giftkomplexen den Anteil an reinem Ermüdungstoxin auch quantitativ zu bestimmen. Im Interesse unserer Wissenschaft scheint es mir allerdings auch wünschenswert, daß Forscher, die sich seit kurzer Zeit auch auf dem Gebiete der Eiweißabspaltungsantigene betätigen, es möglichst vermeiden, für unreine Gemische neue Namen zu erfinden. In der Bakteriologie ist es ja schon lange nicht mehr angängig, daß man einer Kultur, die nicht rein ist, einen besonderen Namen beilegt. So wird sich auch bei allen vorliegenden neuen Gemischen, in denen Eiweißabspaltungsantigene zu vermuten sind, in den meisten Fällen herausstellen, daß ein unreines Ermüdungstoxin vorliegt. Sehr bedenklich scheint vor allem der sehr vage Begriff des Neurotoxins für alle möglichen, die verschiedensten Erscheinungen veranlassenden Giftgemische, namentlich, wenn der Name Neurotoxin auch für Eiweißabspaltuugsantigene mit herangezogen wird.

Was das Ermüdungstoxin in dialysierten Giftkomplexen des durch Abdunsten konzentrierten menschlichen Urins betrifft, so ist dasselbe leicht nachweisbar, namentlich nach Behandeln des konzentrierten Urins mit Bleiacetat und phosphorsaurem Natron wie oben. Allerdings ist das so gewonnene Ermüdungstoxin aus menschlichem Harn viel schwieriger rein herzustellen als das aus Vogelexkrementen; denn im menschlichen Harn sind physikalisch-chemisch dem Ermüdungstoxin sich ganz ähnlich verhaltende, daher schwer abtrennbare, biologisch aber ganz anders wirkende Teilgifte mit dem Ermüdungstoxin vermischt.

Die Ermüdungstoxin- und Antitoxinbefunde des Verf. haben zunächst in physiologischen Kreisen Beachtung gefunden. So z. B. schreibt N. Zuntz in seinem grundlegenden Werke „Höhenklima und Bergwanderungen“ bei Bong & Co. 1906:

Einer dieser „Ermüdungsstoffe“, welcher von Weichardt genauer untersucht wurde, gleicht in seinen Eigenschaften den in den letzten Jahren so viel studierten Krankheit erzeugenden Bakteriengiften, den „Toxinen“. Aus den Muskeln überermüdeter Tiere läßt sich dieses Toxin in größeren Mengen gewinnen. Injiziert man es Tieren in die Blutbahn, so werden dieselben äußerst schlaff, schlafsüchtig, ihre Temperatur sinkt und nach größeren Mengen tritt der Tod ein. Tiere, denen man Ermüdungstoxin wiederholt beibringt, erzeugen in ihrem Blute ein Gegengift, ein Antitoxin. Nach Einspritzung oder auch Verfüttern desselben ertragen die Tiere sonst tödliche Mengen des „Ermüdungstoxins“ u. s. w.

Ferner ist der Privatdozent der Physiologie zu Rostock, Dr. Winterstein, in einer Vorlesung, die er am 15. Oktober 1906 in der Aula der Universität gehalten hat (7), den Forschungen des Verf. mit folgenden Ausführungen näher getreten:

„Wir haben also drei Mittel kennen gelernt, die dem Organismus zur Entfernung der Ermüdungsstoffe zu Gebote stehen. Das eine ist ihre mechanische Fortspülung durch den Säftestrom, der eine Diffusion aus den Zellen in die Lymphspalten und die Kapillaren vorangehen muß, jedenfalls eine langsame und bei intensiverem Stoffwechsel unzulängliche Form der Erholung; als zweites gesellt sich, soweit es sich um Säuren handelt, ihre Neutralisation durch die in den Säften enthaltenen Alkalien hinzu. — Am raschesten und gründlichsten aber wird die Beseitigung der Ermüdungsstoffe bewirkt durch ihre oxydative Zerstörung durch den Sauerstoff, durch ihre Verbrennung zu der leicht löslichen und leicht diffusiblen, erst bei hoher Konzentration schädlich wirkenden Kohlensäure, ein Vorgang, der infolge des Eindringens des Sauerstoffs aus dem Blute

in die Gewebe in diesen selbst, also unmittelbar am Entstehungsorte der Ermüdungsstoffe, erfolgen kann.

Vielleicht sind die Arten der Ermüdungsstoffe und die Möglichkeiten ihrer Beseitigung mit den bis jetzt angeführten noch nicht erschöpft. In jüngster Zeit hat Weichardt sehr merkwürdige und interessante Experimente in dieser Hinsicht angestellt. Er fand, daß sich aus den Muskeln tödlich ermüdeter Tiere und durch besondere chemische Manipulationen auch aus jenen unermüdeter Tiere und dem Eiweiß überhaupt ein Toxin gewinnen läßt, welches schon in sehr kleinen Dosen eine ermüdungsartige Herabsetzung der Leistungsfähigkeit herbeizuführen vermag. Was aber noch bedeutungsvoller ist, es gelang ihm aus dem Serum von Tieren, welche mit schwachen Dosen dieses Toxins behandelt worden waren, ein Antitoxin darzustellen, und aktive und passive Immunisierungsversuche mit dem Erfolge auszuführen, daß die Muskeln der Versuchstiere eine geringere Ermüdbarkeit aufwiesen als die der normalen. — Die Fälle schwerster Ermüdung, die unter dem Bilde einer akuten Allgemeinerkrankung verlaufen, müssen den Gedanken einer Toxinwirkung offenbar nahe legen, wie das schon von Verworn und vielleicht auch von anderen betont worden war. Daß aber unter gewöhnlichen Bedingungen solchen echten Toxinen eine größere Bedeutung zukomme, möchte ich bezweifeln, nicht bloß weil uns die vorangehenden Versuche andere Faktoren als die wesentlichen kennen gelehrt haben, sondern auch auf Grund einer anderen Ueberlegung. Wenn es dem Organismus wirklich so leicht fällt, gegen diese Toxine Antikörper zu erzeugen, dann wäre es kaum verständlich, wieso nicht alle Organismen, in denen doch, man darf wohl sagen, fast immerwährend solche Toxine erzeugt werden müßten, eine ererbte oder wenigstens bereits in frühester Jugend erworbene Immunität gegen diese Art der Ermüdung besitzen. Es läge vielleicht näher, derartige Toxine bloß als in extremen Fällen auftretende Nebenprodukte eines abnormen Eiweißzerfalles zu betrachten. Gegen diese Deutung spricht allerdings die Wirksamkeit des Antitoxins bei normalen Muskeln. Weichardt erwähnt jedoch die Beobachtung, daß die Injektion seines Ermüdungstoxins eine Zunahme der Oxydasereaktion herbeiführe, also eine Zunahme jener Körper, denen anscheinend die Vermittelung der Oxydationsprozesse obliegt, und spricht daraufhin die Hypothese aus, daß die Oxydasen vielleicht eine besondere Art von Antikörpern darstellen. Es wäre also die Möglichkeit gegeben, daß das fragliche Antitoxin seine Wirkung indirekt entfaltet, indem es die Oxydation der wahren Ermüdungsstoffe erleichtert. Es hat aber wohl keinen Sinn, diesen etwas kühnen Spekulationen weiter zu folgen, und wir müssen vorläufig als eine fernere Möglichkeit zur Beseitigung der Ermüdungsstoffe die Bildung von Antikörpern anerkennen, wenn diese Bedeutung auch zweifellos hinter der Oxydation durch den molekularen Sauerstoff zurücksteht."

Somit bestehen vom Standpunkte der modernen Physiologie aus keine wesentlichen prinzipiellen Bedenken gegen die Deutung der tatsächlichen Befunde des Verf., soweit sich diese auf das Gebiet der reinen Ermüdung erstrecken. Immerhin zeigt sich in den Erörterungen Wintersteins die nicht unwesentliche Kluft zwischen den Anschauungen der modernen Immunitätsforschung und den wohlbegründeten Erfahrungen der Physiologen, welche möglichst nur mit den chemisch definierbaren, sicher bekannten Endprodukten biologischer Prozesse zu rechnen bestrebt sind. Die Immunitätsforschung dagegen muß und kann auch, wie aus den obigen Befunden hervorgeht, vielfach mit Produkten arbeiten, die vorläufig chemisch noch nicht definierbar, doch in ihren Wirkungen und durch spezifische Antikörper streng charakterisiert sind. Diese primären Produkte des Stoffwechsels treten bei vielen biologischen Prozessen mehr oder weniger hervor.

Der zunächst unerwartete Befund von nicht dialysablem Ermüdungstoxin in den Exkreten, vor allem in dem der Vögel, zeigt nun, daß auch im normalen Organismus und nicht erst in pathologisch schweren Ermüdungsfällen Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter entsteht.

Die Befunde von vollständiger Absättigung und vollkommener Entgiftung dieses reinen Toxins durch minimale Mengen per os gefütterten, sei es im Tierkörper gebildeten oder auch künstlich aus Eiweiß hergestellten Antitoxins beweist ferner, daß die Rolle dieser Stoffe auch im

normalen lebenden Organismus keinesfalls eine untergeordnete und nebensächliche sein kann.

Uebrigens glaubt Verf. darauf hinweisen zu dürfen, daß nach seinen früheren Versuchen (4) das Eiweißabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter nicht nur durch Reduktionsmittel, wie auch er ursprünglich glaubte, sondern bei leichter chemischer Erschütterung auch durch Oxydationsmittel, z. B. Wasserstoffsuperoxyd, entstehen kann. Ob bei derartigen scheinbaren Oxydationsprozessen doch Reduktionsvorgänge in gewissen Molekularpartieen die eigentlichen Ursachen des hier in Betracht kommenden chemischen Geschehens sind, muß vorläufig unentschieden bleiben.

Daß eine Vermehrung der Oxydasen auf Injektion von Eiweiß eintreten kann, und daß man deshalb Oxydasen recht wohl zu den Antikörpern zu zählen berechtigt ist, wurde allerdings vom Verf. seinerzeit erwähnt, zugleich aber wurde aus dem physikalischen und chemischen Verhalten des Ermüdungsantitoxins der sichere Schluß gezogen, daß das Ermüdungsantitoxin eine Oxydase nicht sein kann.

Schlußsätze.

1) Das Ermüdungstoxin und Antitoxin ist in der organischen Welt sehr verbreitet, und zwar nicht nur im Tier-, sondern auch im Pflanzenreiche.

2) Das Ermüdungstoxin kann rein dargestellt werden aus Muskeln hochermüdeter Tiere, aber auch aus Exkreten; ferner aus gewissen Drogen und künstlich aus Eiweiß. Es bildet ein Teilgift bekannter Toxingemische.

3) Das Ermüdungstoxin ist ein hochmolekularer, nicht dialysabler Körper von Antigencharakter mit bestimmter biologischer Wirkung, und wird von einem Antikörper in spezifischer Weise beeinflußt.

4) Der nach Injektion des Ermüdungstoxins im Tierkörper entstehende Antikörper kann ebenso wie das Ermüdungstoxin künstlich aus Eiweiß hergestellt werden. Er ist dialysabel und acetonlöslich.

5) Die Bindung des Ermüdungstoxins durch seinen Antikörper ist spezifisch, sie ist nicht auf bloße Adhäsionsvorgänge zurückzuführen.

Nachtrag bei der Korrektur.

Während der Zeit der Drucklegung vermochte Verf. Ermüdungsantitoxin noch nachzuweisen im Fleische der Walnuß, in der süßen Kastanie, in der Cocosnuß, in der Muttermilchmolke; Ermüdungstoxin in dem unter aseptischen Kautelen gewonnenen Preßsaft frisch exstirpierter Uteruscarcinomknoten und in zahlreichen Bakterienendotoxinen. Uebrigens sind sicherlich Kliniker hin und wieder ganz unvermutet auf bis dahin unerklärliche günstige Wirkungen des Ermüdungsantitoxins gestoßen. So z. B. L. F. Meyer auf die des Ermüdungsantitoxins der Muttermilchmolke (cf. Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 1 u. 2). Vielleicht gehören hierher auch die günstigen Wirkungen von Heilseren gegen nicht spezifische Toxine. Schon normales Pferdeserum enthält in der Regel etwas freies Ermüdungsantitoxin. In Heilseren, welche durch häufig wiederholte Injektionen von eiweißhaltigen Flüssigkeiten gewonnen werden, wird natürlich das für Eiweißabspaltungsantigen spezifische Ermüdungsantitoxin bis zu einem gewissen mäßigen Grade mit angereichert.

Literatur.

1) Weichardt, W., Serologische Studien auf dem Gebiete der experimentellen Therapie. Stuttgart (Ferd. Enke) 1906.
2) Derselbe, Ueber Ermüdungstoxin und dessen Hemmungskörper. (Med. Klinik. 1906. No. 44.)
3) Derselbe, Studien über einen neuen Hemmungskörper. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 35.)
4) Derselbe, Ueber das Ermüdungstoxin und dessen Antitoxin. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 48.)
5) Trommsdorf, Experimentelle Studien etc. (Archiv für Hygiene. 1906. Heft 1. p. 1—90.)
6) Kippenberger, Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1895. p. 294, 312.
7) Winterstein, H., Ueber Ermüdung. (Med. Klinik. 1906. No. 48.)
8) Weichardt, W., Training im Lichte der modernen Immunitätslehre. (Festschr. f. J. Rosenthal.) Leipzig (Georg Thieme) 1906.
9) Zuntz, Löwi, Müller, Caspari, Höhenklima und Bergwanderungen in ihrer Wirkung auf den Menschen. Deutsches Verlagshaus, Bong & Co. 1906.
10) Weichardt, W., Jahresbericht über die Ergebnisse der Immunitätsforschung. Bd. 1. Bericht über das Jahr 1905. Stuttgart (Ferd. Enke).
11) Heim, L., Lehrbuch der Hygiene. Stuttgart (Ferd. Enke).
12) Derselbe, Lehrbuch der Bakteriologie etc. Stuttgart (Ferd. Enke) 1906.

Bericht über die Influenzauntersuchungen an der Prosektur des k. k. Kaiser Franz-Joseph-Spitales in den letzten 11 Jahren (1896—1906).

[Aus der Prosektur des k. k. Kaiser Franz-Joseph-Spitales in Wien (Vorstand: Prof. R. Kretz).]

Von Dr. **Fritz Tedesko.**

Die in das Jahr 1892 fallende Entdeckung des Influenzaerregers durch Pfeiffer (1) hat eine überwältigende Fülle sowohl klinisch-anatomischer als auch epidemiologisch-statistischer Arbeiten gezeitigt. Sein Mitarbeiter Beck (2) hat das in dieser Hinsicht Wissenswerteste bis zum Jahre 1900 in zwei Referaten in Lubarsch-Ostertags Ergebnissen berichtet. Sämtliche in die Pandemiezeit fallende Untersuchungen haben den Tenor, daß dort, wo bakteriologisch das Pfeiffersche Kurzstäbchen vorgefunden wurde, echte Influenza vorlag.

Pfeiffer (3) selbst gab der ätiologischen Forschung durch Aufstellung des Typus „Pseudoinfluenzabacillus“ eine andere Richtung. Er fand nach dem Erlöschen der eigentlichen Grippepandemie im Jahre 1893 in 3 postdiphtherischen Bronchopneumonieen, die nach seiner eigenen Angabe „auffällig an die Influenzapneumonieen erinnerten“, Scheinfäden bildende, größere, gramnegative, hämoglobinophile Stäbchen. Pielicke (4) sah bei längerer Fortzüchtung Scheinfäden bildende Species an Größe abnehmen, bis sie die Größe der echten Influenzastäbchen erreichten. Borchardt (5), Lindenthal (6) und in jüngster Zeit Jochmann (7) halten bei der zuerst von Grassberger (8) beobachteten Variabilität des morphologischen Verhaltens der Influenzabacillen eine Trennung der beiden Species nicht für rätlich. Bemerkenswert ist auch der Umstand, daß Beck (2) in seinem letzten Influenzareferat den Pseudoinfluenzabacillus nicht erwähnt.

Die experimentelle Forschung führte bisher zu keinem positiven Ergebnisse. Cantani (9) konnte zwar durch intracerebrale Impfung mit 20-stündigen Blutagarkulturen, Jacobsohn (10) durch intravenöse Injektion von Influenzabacillen gemeinschaftlich mit abgeschwächten Streptokokken, Jehle (11) durch intraperitoneale Einverleibung von Blutbouillonkulturen den Tod der Versuchstiere mit positivem Bacillenbefund auch im Blute und den übrigen Organen herbeiführen. Den beim Menschen pathogenen pulmonalen Infektionsmodus zu reproduzieren, ist keinem Autor gelungen. Jedoch bringe ich eine Beobachtung, für deren persönliche Mitteilung ich Herrn Prof. Kretz Dank schulde, zur allgemeinen Kenntnis. Dem Genannten zerbrach anläßlich einer photographischen Aufnahme eine mit frisch gewachsenen Influenzakolonieen besäte Petrische Schale, wobei vom Kulturrasen die Hände infiziert wurden (Kulturabbildung 4 in Grassbergers Arbeit [8]). Nach 24 Stunden setzte ein typischer Influenzaanfall ein und im Sputum war noch durch 2 Monate lang der Influenzabacillenbefund positiv.

Aus der neueren Kasuistik greife ich die bakteriologisch untersuchten Fälle Cagnettos (12), Albrecht und Ghons (13), Peuckers (14), Schlagenhaufers (15) und Nauwercks (16) heraus, die seltene Lokalisationen und zwar in den Meningen, auf dem Endokard und im Eiter einer Vorderarmphlegmone bei einem Kinde aufzählen. Besonders hervorhebenswert in mannigfacher Beziehung ist der 7. Fall in C. Adrians (17) Publikation, wo es im Verlaufe einer Influenzaattacke zur Bildung eines periappendikulären Abscesses mit positivem, auch kulturellem, Bakteriennachweis kam. Ueber „Appendicite grippale" berichtet auch Meunier (18), dessen Schlußfolgerungen jedoch nur auf klinischen Beobachtungen basieren, desgleichen Lucas-Championière.

Die umfassendsten Reihenuntersuchungen stammen aus den Pandemiejahren. In einem größeren Werke, welches teilweise noch in die vorätiologische Zeit fällt, gibt Schmidt (19) eine Darstellung über den Verlauf der Influenza in den Jahren 1889—1894 in der Schweiz. Ein mehr homogenes Material behandeln die Untersuchungen in Militärspitälern (20) und Irrenanstalten (Wunderlich [21]), jedoch entbehren beide der bakteriologischen Untersuchung. Die neueren Reihenuntersuchungen beschäftigen sich durchgehends mit der Bakteriologie der Saisongrippe, der Rolle der Influenza als Mischinfektion bei Tuberkulose, bei exanthematischen Krankheiten und nicht durch den Tuberkelbacillus hervorgerufenen Lungenaffektionen. Es ist begreiflich, daß bei der launenhaften, teils larviert, teils explosionsartig auftretenden Influenzamorbidität die aus aller Herren Länder mitgeteilten epidemiologischen und statistischen Beiträge — selbst die gleichartige Untersuchungstechnik vorausgesetzt — zur endgültigen Beurteilung der Natur der sporadischen Influenza als nicht komparables Material wenig verwertbar waren. Dankbar befolge ich daher den Rat meines verehrten Chefs, Prof. Kretz, das große Influenzamaterial, das im Verlaufe von 10 Jahren an der hiesigen Prosektur zur Untersuchung gelangte, zu analysieren und zu verwerten. Der Vorzug dieser in einem solchem Umfange bisher noch nicht vorgenommenen Zusammenstellung liegt außer der relativen Homogenität des Materials in dem Umstande, daß Prof. Kretz selbst der Influenzafrage seit jeher besonderes Interesse zollte, wovon die aus dem Institute hervorgegangenen Influenzaarbeiten, die jedoch nur einzelne Gesichtspunkte und kleinere Abschnitte der Influenzapathologie umfaßten, Zeugnis ablegen (Grassberger [8 u. 12], Kretz [22], Jehle [11]).

Die Untersuchungstechnik ist mit der von Grassberger in dem XXV. Bande der Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. p. 453 ff. konform geblieben; worauf wir besonderen Wert legen, ist der Umstand, daß wir bei zweifelhaftem mikroskopischen Aussehen einer Kolonie stets die Gram-Färbung und Fortzüchtung zu Rate zogen. Leicht kommt es bei der gewöhnlichen Gram-Färbung der Originaldeckgläser zur nicht genügenden Unterfärbung der gramnegativen Influenza, und wir mußten uns, um die Anwesenheit von Influenza aufdecken zu können, immer der Färbung mit erwärmtem Karbolfuchsin bedienen, die öfter eine Unmenge im Gram-Präparat nicht gefärbter Kurzstäbchen zum Vorschein brachte. Bemerken möchte ich auch, daß ich im heurigen Frühjahr bei drei aus Sputis isolierten Influenzastämmen (272, 276 und 303, 1906), die ich bis in die 40.—50. Generation intermittierend mit Staphylokokkenmischplatten reingezüchtet habe, massenhafte Scheinfädenbildung, Polfärbung und schlechte Färbbarkeit einzelner Individuen gefunden habe, konform früheren Beobachtungen des Institutes.

Im ganzen betrug die Untersuchungsanzahl vom 1. Januar 1896 bis Ende Juli 1906 1479. Aus den Protokollen wurden nur diejenigen Beobachtungen ausgehoben, die neben dem Befund des Originaldeckglases auch Bemerkungen über das kulturelle Verhalten aufweisen. Bei der Reichhaltigkeit des Materials möchte ich zum Zwecke größerer Uebersichtlichkeit den Stoff derartig anordnen, daß ich sowohl klinische als auch anatomische Beobachtungen, nach Jahrgängen gesichtet, tabellarisch abfasse, das Charakteristische größerer Zeitabschnitte zusammenfassend an der Hand prägnanter Fälle ausführlicher erläutere und zum Schlusse größerer Perioden auch von der Norm abweichende Befunde gesondert hervorhebe.

Abkürzungen: I = Influenza, Staph = Staphylokokken, Strept = Streptokokken, Diplo = Diplokokken, Fr = Bac. Friedlaender, Pn = Pneumokokken, Cat = Micrococcus catarrhalis.

Die Untersuchungen erstrecken sich, wo es nicht besonders bemerkt ist, auf Sputum resp. Bronchialsekret.

1896	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	24. März	21	60 J.	Influenza	I fast rein	
2	4. April	23	55 „	Influenza	I überwiegend, Diplo + Strept	† 6. Juni
3	5. „	24	21 „	Tbc	I stark mit Diplo verunreinigt	
4	13. „	31	75 „	Pneumonia crouposa, Gangraena pulm.?	I u. Diplo zu gleichen Teilen	† 9. Mai
5	23. „	39	75 „	Pneumonia crouposa, Gangraena pulm.?	I noch immer sehr reichlich	
6	2. Mai	44	30 „	Influenza	I + $^1/_{10}$ Diplo	
7	22. „	54	43 „	Bronchitis, T	I überwiegend, auf 30 Kolonieen eine Diplo- oder Staph-Kolonie	Im Deckglas enorme Mengen I
8	2. Juni	58	?	Influenza	I überwiegend	

Sektionen 1896.

1896	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	9. Mai	51	75 J.	Pneumonia crouposa	Pneum. lobul. confluens, Emphysema pulm.	Wenig I, kleine Diplo + Staph. aur. alb.
2	6. Juni	63	55 „	Infl. Pneumonie	Pneum. lobul. ex influenza	Reichlich I, wenig Diplo
3	7. „	60	52 „	Pneum. caseosa?	Pneum. lobul. confluens ex influenza	I fast nur mit Bact. coli verunreinigt

Die geringe Anzahl Untersuchungen hat ihren Grund in der Unvollständigkeit der vorhandenen Protokolle. Trotzdem figuriert in 9 Fällen der I-Bacillus prävalierend und sind von den 3 Autopsieen 2 als echte Influenzapneumonieen verzeichnet. Bemerkenswert ist auch das Auftreten der Morbidität, die nicht an die mit Katarrhen reichlich bedachte Vorfrühlingszeit fällt.

1897.

An 18 von 71 untersuchten Sputis wurde klinisch das Vorhandensein des I-Bacillus vermutet. Die Erkrankten stehen größtenteils jenseits des 4. Dezenniums. Der jüngste Fall betrifft ein 7-jähriges, an Scarlatina verstorbenes, der älteste ein 68-jähriges Individuum. Die größte Mortalität fällt in die Monate Juni und Juli.

Kasuistisches Interesse bietet der Fall 6, der neben schwerer Bronchitis acuta Myocardveränderungen aufweist; das Herzfleisch diffus fettiggelb, erweicht, enthält insbesondere an der Vorderwand des linken Ventrikels flache, 1 cm im Durchmesser haltende, hämorrhagisch und fettgelb gesprenkelte, teils prominierende, teils einsinkende Herde. Aorta glatt. An den Koronararterien ausgedehnte fettig-gelbe Plaques. Wahrscheinlich kam es in diesem Falle unter dem Einfluß der Influenzainfektion zu ausgedehnten ähnlichen Gefäßschädigungen im Herzmuskel, die die akute Myocarditis bedingten. Gehört ja nach Wiesel (23) die Influenza zu den Infektionskrankheiten, die schwere Schädigungen der elastischen Medialamellen hervorrufen.

Unter 30 zur Sektion gelangten Fällen mit positivem Bacillenbefund enthält in 10 die Obduktionsdiagnose den Hinweis auf die Aetiologie der Lungenaffektion durch Influenza.

Das Durchschnittsalter dieser an akuteren Influenzaformen (Lobulärpneumonie, akute Bronchitis, Pneumonie mit Abscedierung oder Gangrän) verstorbenen Individuen beträgt 41,7 Jahre.

Die Zahl der Fälle ist eine relativ große, da Kretz im Sommer 1897 eine große Anzahl Sputa systematisch auf I untersuchte und die Befunde aus klinisch latenten Fällen zum Ausgange einer genauen Kontrolle in der ganzen Folgezeit machte.

1897	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	21. Jan.	12	18 J.	Tbc. pulm.	I spärlich, Diplo, Staph	
2	22. „	13	?	I	I reichl.	
3	3. Febr.	19	?	I	I reichl. + Staph. aur.	
4	3. „	20		Meningitis	I reichl. aus der Lumbalpunktionsflüssigkeit	Die I-Kol. besonders groß
5	8. „	25	?	Pneumonie	Ueberwiegend I, spärl. Staph, Diplo	
6	8. „	26	?	Tbc. pulm.	Spärlich I, Diplo, Staph. aur.	
7	9. März	52	?	Influenza	I massenhaft neben Staph. aur.	
8	10. April	59	?	I	I reichl.	Bipolar gefärbt
9	20. „	67	?	I	I massenh. + Staph. aur.	
10	1. Mai	88	?	I	I fast rein	
11	29. „	105	?	Pneumonie	Friedl u. I zu gleichen Teilen	
12	8. Juni	113	22 J.	Pneumonie	$^1/_4$ I	
13	8. „	114	13 „	Infl.	I + Diplo	
14	8. „	115	?	I	$^1/_4$ I	
15	9. „	119	?	I	$^1/_2$ I	
16	10. „	120	?	Bronchitis	$^1/_4$ I	
17	19. „	128	?	Pneumonie	Reichl. I	
18	19. „	129	?	Pneumonie	Sehr viel I + Friedl	
19	22. „	138	?	Tbc. pulm.	Sehr vereinzelt I	
20	26. „	147		Tbc. pulm.	Fast ganz reine I	
21	27. „	153	?	Bronchitis acuta	$^1/_2$ I	
22	29. „	159	30 J.	Influenza	I in Reinkultur	
23	29. „	163	2 „	Scarlatina	Reichl. I	
24	30. „	165	?	Bronchitis (Graviditas extrauterina)	I + Friedl	
25	3. Juli	169	?	Pneumonie	$^2/_3$ I	Deckglas: Viel I, extracellulär
26	4. „	170	?	Typhus	$^1/_3$ I	
27	6. „	172	?	Pleuritis	$^9/_{10}$ I	Sputum
28	19. „	187	?	Pneumonie	$^1/_8$ I	Nach 36 Stunden deutliche Scheinfädenbildung
29	19. „	188	?	Fungus tbc.	$^9/_{10}$ I	
30	22. „	202	?	Pleuritis	Zieml. reichl. I	
31	23. „	203	?	Bronchitis acuta	$^2/_3$ I	
32	26. Okt.	287	?	Pleuropneumonie	$^1/_2$ I	
33	26. „	295	30 J.	Bronchitis, Peritonitis	$^9/_{10}$ I	
34	1. Nov.	300	?	Erysipelas	$^1/_2$ I	
35	16. „	332		Bronchitis	$^3/_4$ I	Viel intracellulär
36	20. „	340		Pleuritis tbc.	Vereinzelt I	
37	22. „	342		Influenza	$^1/_4$ I	
38	5. Dez.	381		Pneumonie	$^1/_6$ I	
39	5. „	382		Pneumonie	$^1/_4$ I	
40	9. „	394		Pneumonie	$^1/_8$ I	
41	9. „	398		Pneumonie	$^1/_6$ I	2mal untersucht, viel intracellulär

1897	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	14. März	53	21 J.	Influenza, Lungengangrän	Pneum. lobul. extensa, Gangraena lobi sup. pulm. dextri ex infl.	Strept + I = 1 : 30
2	18. Mai	92	55 „	Morb. Brightii, Emphysema pulm.	Emphysema pulm. chron., Bronchitis purulenta diffusa	Infl. nahezu rein
3	24. „	98	36 „	Pneumonia	Tbc. chron. apic., Influenzapneumonie (lobulär)	Massenhaft I, viele intracellulär
4	28. „	106	42 „	Nephritis, Urämie	Nephritis chronica, Bronchitis diffusa gravis, Pneum. lobul. in resolutione	Fast nur I + Bact. coli
5	10. Juni	116	54 „	Influenzapneumonie	Pneum. catarrhalis, Bronchitis diffusa, Bronchiectasiae	Reinkultur von I, 50 Kolonieen
6	12. „	118	44 „	Influenza	Pericard. haemorrhag. cum myocard. acuta, Bronchitis diffusa grav., I	Strept + I, vom Epicard geimpft
7	14. „	119	59 „	Pleuropneumonie, Lungenabsceß	Phthisis ex infl. lobi sup. pulm. dextri acuta, Pericarditis purulenta	Friedl + I in Reinkultur
8	17. „	129	24 „	Tbc. pulm.	Tbc. acuta sub forma infiltr. lobul., Pyopneumothorax	Reichlich I
9	17. „	125	24 „	Tbc. pulm.	Tbc. acuta et chron. pulm., Meningitis tbc.	Reichlich I
10	18. „	126	28 „	Tbc. pulm.	Phthisis tbc. pulm., Pneumothorax	Reichlich I, wenig Diplo, Strept, Staph
11	21. „	134	7 „	Scarlatina in desquam., Nephritis acuta	Glomerulo nephritis, Bronchitis diffusa	Viel I
12	25. „	149	36 „	Pleuritis obsoleta, Gangraena pulm., Pyopneumothorax	Gangraena pulm., Pneumon. cum induratione partiali, Pyopneumothorax	Spärlich I
13	2. Juli	164	50 „	Insolatio	Influenzabronchitis, Hyperaemia meningum et cerebri	$^1/_2$ I + $^1/_2$ Staph. aur.
14	6. „	175	68 „	Atrophia cerebri	Bronchitis catarrhalis cum pneum. lob. int. pulm. dextri	$^1/_8$ I, sonst Pneum
15	13. „	188	44 „	Ca. ventriculi?, Tbc. pulm.	Tbc. pulm. acuta sub forma infiltrationum, Ulcera tbc. intestini	Fast nur Staph. aur. + I
16	20. „	205	28 „	?	Pneum. lobul. bilat. e bronchitide	Diplo, Strept, $^1/_{10}$ I
17	19. „	208	? „	Tbc. pulm.	Tbc. pulm. acuta et granularis, Tbc. tubarum	Staph. aur. + 20 prachtvolle I-Kolonieen
18	27. „	218	28 „	Meningitis cerebrospinalis	Meningitis purulenta, Bronchitis purulenta	Nur 5 I-Kolonieen
19	28. „	219	37 „	Influenza	Gangraena pulmon. dextri ex infl., Abscessus cerebri	Ca. 95 Proz. I

1897	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
20	31. Juli	224	14 J.	Influenzabronchitis, Stenosis ostii venos. sin.	Bronchitis intensiva et extensa cum pneum. lobul. et atelectatibus ex influenza	Auf viele 100 I 3 bis 4 fremde Kolonieen
21	1. Aug.	225	46 „	Influenzabronchitis, Endocarditis	Empyema dextrum cum pneum. interstit. ex infl.	Trachea: 95 Proz. I, Blut: 1 I auf ca. 60 Strept
22	2. „	227	33 „	Pleuritis haemorrh.	Pleuritis haemorrhagica, Tracheïtis et bronchit. diffusa	Reichlich I
23	2. „	228	57 „	?	Meningitis purulenta, Bronchitis extensa cum pneumon. lobul.	1/10 I
24	30. Sept.	271	42 „	Nephritis chronica, Bronchitis	Atrophia renum granularis, Bronchitis diffusa	Ueberwiegend I
25	1. Nov.	306	51 „	Bronchitis diffusa, verisimile Influenza	Bronchitis et pneumonia lobularis, Pleuritis recens.	Fast reine I
26	10. „	321	27 „	Pyaemia	Septicopyaemia e processu puerperali, Pneumonia	Einzelne I, Strepto, Staph
27	13. „	329	44 „	Uteruscarcinomrezidive	Carc. exulcerat. pelveos., Emphysema, Bronchiektasie, Bronchitis	Reichlich I
28	24. „	352	46 „	Insuffic. valv. mitr.	Insuffic. valv. mitr., Atrophia fusca pulm.	Einzelne I
29	29. „	409	67 „	Pleuritis, Pneumon. lobul., Bronchitis (Infl.)	Pneumonia lobularis cum suppuratione partiali	Reichlich I
30	12. Dez.	419	62 „	Erysipelas faciei	Pneumonia crouposa, Bronchitis diffusa	3/4 I

1898.

Die Anzahl der Untersuchungen hat in diesem Jahre scheinbar beträchtlich zugenommen (127 gegen 71 im Jahre 1897). Die meisten Todesfälle mit komplizierendem Influenzabefund weisen die Monate Februar und März auf. Auch die Morbidität verläuft zeitlich mit der Mortalität parallel.

Auch die Rolle der Influenza als Mischinfektion wird manifester. Während im Vorjahre (1897) bloß in 4 Sputis von Tuberkulösen ein positiver Bacillenbefund erhoben werden konnte, steigt die Anzahl für das Jahr 1898 auf 12. Die Vergleichszahlen für akute Exantheme betragen 4 (1898) gegen 1 (1897), für Typhus abdominalis 2 gegen 1.

Beachtenswert ist der Umstand, daß eine große Anzahl alter Leute mit reichlichem I-Bacillenbefunde, dem auch die Intensität der anatomischen Lungenveränderungen entsprach, an der Lungenaffektion als unmittelbarer Todesursache starben (1, 3, 8, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 23). Das Durchschnittsalter dieser Totenkategorie beträgt 72,2 Jahre (1897 = 41,7 Jahre).

1898	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	2. Jan.	1		Pneumonie	Vorherrschend I	Pr. 8 nachuntersucht
2	5. „	9		Abscessus pulm.	12 I-Kolonieen, Staph, Pneum	
3	10. „	19		Influenza	$^1/_3$ I	
4	14. „	32		Tbc. pulmonum	Einzelne I	
5	15. „	33		Influenza	$^1/_6$ I	
6	17. „	36		Influenza	$^3/_4$ I	
7	19. „	42		Tbc., Pleuritis exsudativa	$^1/_3$ I	
8	22. „	47		Pneumonie	$^9/_{10}$ I	
9	23. „	51		Tbc. pulm.	$^1/_8$ I	
10	24. „	53		Bronchitis	$^1/_2$ I	
11	24. „	54		Tbc. pulm.	$^1/_4$ I + Friedl	
12	24. „	56		Influenza	Zieml. reichl. I	
13	25. „	61		Influenza	Zieml. reichl. I	
14	27. „	63		Pneumonia peracta	Fast reine I	
15	27. „	66		Tbc. pulm.	Weit überwiegend I	Pr.-No. 71
16	31. „	79		Pneumonie	Reichlich I	
17	4. Febr.	93		Typhus	$^1/_2$ I	
18	10. „	107		Pneumonie	$^1/_2$ I	
19	10. „	109		Influenza	$^1/_5$ I	
20	11. „	112		Influenza	I fast in Reinkultur	
21	12. „	114		Pneumonie	$^1/_4$ I	
22	12. „	115		Influenza	Einzelne I	
23	15. „	119		Bronchitis	$^1/_8$ I	
24	15. „	123		Influenza	$^1/_{10}$ I	
25	15. „	125		Influenza	$^1/_8$ I	
26	21. „	132		Tbc. pulm.	$^1/_5$ I	
27	21. „	135		Influenza	$^1/_8$ I	
28	24. „	139		Influenza	$^1/_2$ I	
29	24. „	143		Tbc. pulm.	$^9/_{10}$ I	
30	24. „	144		Influenza	Ueberwiegend I	
31	25. „	145		Influenza	30 I-Kolonieen	
32	25. „	146		Tbc. pulm.	$^1/_2$ I	
33	28. „	147		Influenza	$^1/_8$ I	
34	6. März	167		Influenza	$^1/_5$ I	
35	7. „	169		Tbc. pulm.	< $^1/_2$ I	
36	9. „	166		Morbilli	Fast reine I	
37	8. „	172		Morbilli	< $^1/_2$ I	
38	8. „	173		Morbilli	< $^1/_2$ I	
39	8. „	174		Influenza	$^1/_8$ I	
40	9. „	175		Morbilli	Reichlich I	
41	13. „	183		Bronchitis	$^1/_4$ I	
42	17. „	197		Influenza	< $^1/_2$ I	
43	19. „	202		Bronchitis	$^3/_4$ I	
44	20. „	205		Bronchitis	Einzelne I	
45	21. „	206		Abscessus pulm.	Fast reine I	
46	25. „	215		Influenza	Vereinzelt I	
47	27. „	221		Influenza	Spärlich I	
48	29. „	226		Influenza	Neben Friedl reine I	
49	30. „	228		Influenza	$^1/_4$ I	
50	2. April	234		Influenza	$^1/_3$ I	
51	4. „	238		Influenza	Spärlich I	
52	5. „	240		Influenza	$^1/_5$ I	
53	5. „	243		Bronchitis	$^1/_3$ I	
54	14. „	261		Influenza	Keine I	
55	14. „	265		Pneumonie	Ca. 25 auffallend große I-Kolonieen	
56	18. „	267		Influenza	$^1/_5$ I	
57	21. „	269		Influenza	< $^1/_2$ I sonst Diplo	
58	28. „	287		Influenza	Spärlich I + Friedl	

1898	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
59	30. April	289		Influenza	Einzelne I	
60	30. "	294		Influenza	1/2 I	Riesenwachstum
61	3. Mai	296		Pneumonie	Reichlich I	
62	3. "	302		Influenza	1/2 I	Riesenwachstum
63	3. "	304		Influenza	1/5 I	Riesenwachstum
64	3. "	306		Typhus	1/8 I	
65	6. "	309		Influenza	Reichlich I	
66	7. "	311		Erysipelas	Fast reine I	
67	8. "	317		Influenza	Sehr reichlich I	
68	15. "	331		Influenza	Spärlich I	
69	28. "	342		Influenza	Fast reine I	
70	1. Juni	350		Influenza	Fast reine I	
71	5. "	360		Influenza	Reichlich I	
72	10. "	370		Tbc. pulm.	Zieml. reichl. I	
73	11. "	371		Influenza	Reichlich I	
74	19. "	380		Influenza	9/10 I	
75	20. "	384		Influenza	Fast reine I	
76	22. "	391		Influenza	Reichl. I + Friedl	
77	29. "	405		Pneumonie	Einzelne I	
78	29. "	406		Tbc. pulm.	Einzelne I	
79	19. Aug.	474		Erysipelas, Influenza	Reichlich I	
80	19. "	475		Influenza	1/2 I	
81	24. Sept.	520		Tbc. pulm.	Bis auf einz. Diplo Reinkultur I	
82	28. "	528		Influenza	1/2 I	
83	28. "	529		Influenza	Einzelne I	
84	29. "	532		Influenza	Fast reine I	
85	3. Okt.	535		Influenza	Friedl + I	Scheinfädenbildung
86	7. "	548		Pneumonie	3/4 I	Scheinfädenbildung
87	12. "	555		Influenza	3/8 I	
88	13. "	556		Influenza	< 1/2 I	
89	24. "	579		Influenza	Reinkultur von I	
90	28. "	588		Influenza	Reichlich Infl.	
91	16. Nov.	618		Influenza	Ziemlich viel I	
92	16. "	632		Influenza	Ziemlich viel I	
93	24. "	636		Influenza	I fast in Reinkultur	
94	26. "	637		Influenza	Sehr vereinzelt I	
95	3. Dez.	646		Influenza	Fast Reinkult. von I	
96	6. "	657		Influenza	Reichlich I	
97	9. "	661		Abscessus pulm.	1/10 I sonst Friedl + Diplo	
98	9. "	662		Influenza	Ziemlich viel I	
99	12. "	666		Influenza	Eine I-Doppelkol.	
100	16. "	671		Bronchitis	1/6 I	
101	23. "	681		Influenza	Ziemlich viel I	
102	27. "	691		Influenza	Reichlich I	
103	31. "	703		Pneumonie	Reichlich I + Strept + Staph	

1898	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	23. Jan.	50	82 J.	Pneumonia	Bronchitis acuta cum atelectatibus	Ueber 9/10 I
2	27. "	65	53 "	?	Bronchitis et pneumonia indurativa ex infl.	Einzelne I
3	3. Febr.	86	69 "	Emphysem, Pneumonie	Pneum. lobul. confluens, Pleuritis purulenta	1/2 I

1898	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
4	8. Febr.	99	47 J.	Status moribundus	Pneumon. lobaris, Bronchitis purulenta, Pleuritis recens.	$^1/_4$ I, Riesenkolonieen
5	8. „	102	60 „	Aneurysma aortae	Pericarditis haemorrhag., Induratio pulm., Bronchitis acuta diffusa	Ueber $^1/_2$ I, sonst Staph. aur.
6	10. „	108	61 „	Fractura baseos cranii	Bronchitis diffusa gravis	Ueber $^1/_2$ I
7	12. „	116	67 „	Tbc. pulm.	Pneumonia lobi inf. pulm. dextri partim in suppuratione	Zieml. reichl. I
8	12. „	117	85 „	Influenza	Infiltrat. lobul. confluent., Bronchitis diffusa gravis	$^1/_8$ I
9	1. März	148	23 „	Meningitis	Meningitis seropurulenta	$^1/_3$ I
10	4. „	163	24 „	Tbc. pulm.	Tbc. florida pulm.	$^1/_6$ I
11	11. „	180	49 „	Meningitis post otitidem	Meningitis purulenta, Empyema process. mastoïdei, Bronchitis ex infl.	Sekret aus dem Sinus sphenoïdalis: Reichlich I
12	14. „	187	38 „	Erysipelas	Bronchitis diffusa	Zieml. reichl. I
13	14. „	188	4 „	Pleuritis	Pleuritis fibropurulenta, Bronchitis fibrosa	$^2/_3$ I
14	15. „	190	80 „	Erysipelas	Pneumonia lobularis	Reichlich I
15	23. April	276	38 „	Endocarditis ulcerosa	Infiltrat. haemorrh. pulm., Bronchitis	$^1/_3$ I, auf Voges-Agar typische Fäden
16	22. „	271	64 „	Status moribundus	Myodegeneratio, Bronchitis ex infl.	Reichlich I
17	5. Juni	359	78 „	Marasmus senilis	Bronchitis diffusa gravis	Reichlich I
18	22. Aug.	483	68 „	Erysipelas	Bronchitis gravis ex influenza	Zieml. reichl. I
19	14. Okt.	561	61 „	Influenzapneumonie	Bronchitis acuta diffusa cum atelectatibus	Ueberwiegend I
20	16. „	564	65 „	Encephalomalacia	Indurationes multiplie es pulm. cum bronchitide	Ganz überwiegend I
21	19. Nov.	626	51 „	Alcoholismus chronicus	Tbc. pulm. chron., Induratio pulm., Pleuritis fibrinosa	$^2/_3$ I
22	25. Dez.	687	3 Mon.	Pertussis	Tracheo bronchitis cum suppuratione circumscripte pulmonum	$^1/_2$ Pertussisbacillen, $^1/_8$ I, Staph, Diplo
23	27. „	692	70 J.	Pneumonia, Bronchitis	Pneumonia croup., Bronchitis diffusa	Reichlich I
24	28. „	697	36 „	Gangraena pulm., Abscessus hepatis	Abscessus pulm. et abscess. metastatici in hepate.	Reichlich Infl.

(Fortsetzung folgt.)

Ein Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus und zum Verhalten der Streptokokken auf Blutnährböden.

[Aus der Prosektur und dem bakteriologischen Institut der Landeskrankenanstalt in Brünn (Vorstand: Doz. Dr. C. Sternberg).]

Von Dr. **Leo Scheuer**, Assistent.

Kapseltragende Streptokokken bilden im allgemeinen einen seltenen Befund bei bakteriologischen Untersuchungen, selten namentlich im Vergleich zum häufigen Vorkommen der gewöhnlichen Streptokokken. Eine genauere Kenntnis dieser Mikroorganismen verdanken wir erst den Autoren der letzten Jahre. Wurden auch schon früher von manchen Autoren (Besser, Bonome etc.) kapseltragende Streptokokken unter verschiedenen Namen beschrieben, die möglicherweise hierher gehören — vielleicht sind auch der Leuconostoc Hlavas und andere hierher zu zählen — so vermittelten wohl erst einige Arbeiten der jüngsten Zeit eine nähere Kenntnis des kapseltragenden Streptococcus, des sogenannten Streptococcus mucosus capsulatus. Eine ausführliche Angabe der einschlägigen Literatur erübrigt sich wohl, da dieselbe in zwei erst vor kurzem in dieser Zeitschrift publizierten Arbeiten — von Buerger und von Schuhmacher — eingehend berücksichtigt ist. Zusammenfassend lassen sich aus den vorliegenden Mitteilungen folgende Eigenschaften des Streptococcus mucosus capsulatus feststellen:

Die Gestalt des Einzelindividuums wechselt. Der Coccus ist meist rund oder länglich, die Größe verschieden; „in einer Doppelform konnte ein Coccus den anderen um mehr als das Doppelte an Dicke übertreffen" (Schuhmacher). Nach Buerger herrscht die Semmelgestalt vor, wobei die abgeplatteten Seiten einander zugekehrt sind, während verschmolzene Kokken eventuell Lanzettform vortäuschen können. Nur Longcope beschreibt wirkliche Lanzettform. Allgemein wird als besonderes Merkmal die Anwesenheit einer Kapsel hervorgehoben, welche mit den gebräuchlichen Färbemethoden meist gut, zuweilen schwer darstellbar ist. Im Tierkörper ist dieselbe stets vorhanden, in alten Kulturen fehlt sie manchmal. Der Coccus färbt sich gut nach der Gramschen Methode, während die Kapsel die zur Nachfärbung verwendete Kontrastfarbe annimmt (Buerger, Schuhmacher). Seine Kulturen sind durch ihr saftiges, schleimiges Wachstum und durch rasche Hinfälligkeit ausgezeichnet. Für weiße Mäuse ist er stark pathogen.

Trotzdem dieser Mikroorganismus in der letzten Zeit eingehender studiert wurde, blieb manche Frage, so insbesondere seine Beziehung zu den übrigen Streptokokken und zu den Pneumokokken (siehe später) noch ungelöst. Da zur Differenzierung auch das Verhalten der fraglichen Streptokokken auf Blutnährböden herangezogen wurde, und wir uns hiermit schon längere Zeit beschäftigt hatten, so sei es mir im folgenden gestattet, über unsere Untersuchungen an einem kapseltragenden Streptococcus zu berichten.

Der Stamm wurde bei der Sektion der Leiche eines an Typhus verstorbenen 11-jährigen Mädchens gewonnen, das intra vitam Erscheinungen

einer Otitis media suppurativa geboten hatte. Auf der mit Eiter aus dem Mittelohr beschickten Agarplatte entwickelten sich sehr zahlreiche Kolonieen des Streptococcus pyogenes, ferner 18 Kolonieen des Staphylococcus citreus, 2 Kolonieen des Staphylococcus roseus und endlich 10 Kolonieen, die untereinander vollkommen identisch waren und im folgenden genauer beschrieben werden sollen. Auf einer zweiten mit der Verdünnung des Ausgangsmaterials beschickten Agarplatte gedieh ausschließlich der Streptococcus pyogenes in Reinkultur, während die zu beschreibenden Kolonieen hier nicht mehr vorkamen.

Es waren dies konvexe, grauweiße, stark glänzende, ziemlich scharf begrenzte, runde, fadenziehende Kolonieen von schleimigem Aussehen und 3—5 mm Durchmesser; sie erreichten nach 6 Tagen 5—8 mm im Durchmesser ohne einzutrocknen oder ihren schleimigen Glanz zu verlieren. Im Deckglaspräparat fanden sich kreisrunde oder länglich geformte Kokken etwa von der Größe des Diplococcus lanceolatus, welche stets als Diplokokken auftraten und von einer deutlichen blassen Hülle umgeben waren, die nach der Friedländerschen Methode färbbar war. Bei Anwendung der Gramschen Färbemethode blieb nur ein Teil der Kokken blauviolett gefärbt, bei stärkerer Entfärbung gaben die meisten den Farbstoff ab. Kulturell zeigte der isolierte Stamm folgendes Verhalten:

Agarplatte: Nach 24 Stunden 3—4 mm breite Kolonieen von oben beschriebenem Aussehen; mikroskopisch: kreisrunde, scharf begrenzte, feinkörnige, konvexe Kolonieen von gelbbrauner Farbe.

Zuckeragarplatte: desgleichen.

Agarstrich: Nach 24 Stunden üppiger hellgelbweißer zusammenhängender Rasen vom selben glänzend schleimigen Aussehen. Nach einigen Tagen wurde die Oberfläche krümelig, die Farbe matter, grauweiß.

Agarstich: Im Stichkanal üppiges Wachstum mit stalaktitischen Ausbuchtungen, oberflächlich eine flache konvexe Scheibe (Nagelkultur).

Zuckeragarstich: Im Stichkanal üppiges Wachstum mit feinen Faserausläufern, oberflächlich wie beim Agarstich.

Gelatineplatte: Nach 48 Stunden 1—2 mm breite, tropfenähnliche, graudurchscheinende Kolonieen, die später grauweiß, opak werden und nicht mehr als 4 mm Durchmesser erlangen. Keine Verflüssigung. Mikroskopisch: kreisrunde, scharf begrenzte, feinkörnige blaßbraune Kolonieen mit einem dunkleren Zentrum. Tiefliegende Kolonieen kleiner als aufliegende, kreisrund, das dunklere Zentrum fehlend.

Gelatinestich: Ziemlich dürftiges Wachstum ohne Verflüssigung.

Milch: Nach 4 Tagen geronnen.

Bouillon: Nach 24 Stunden diffus getrübt, mit zähschleimigem reichlichem Bodensatz und Kahmhaut.

Gärungskölbchen: Wachstum wie in Bouillon, keine Gasbildung, der längere Schenkel des Röhrchens bleibt klar.

Kartoffel: Schleimiges Wachstum, nicht so üppig wie auf den anderen Nährböden. Indolbildung nur in Spuren.

Tierversuch: 1 ccm der 24-stündigen Bouillonkultur wurde einer weißen Maus intraperitoneal injiziert; nach 12 Stunden fand man das Tier verendet, bereits starr. Die Sektion ergab im Peritonealraum einige Tröpfchen zäher, fadenziehender Flüssigkeit. Ein davon angefertigtes Deckglas zeigte in großer Menge die oben beschriebenen Kokken,

welche auch hier stets in Diplokokkenform auftraten oder Ketten von 2—5 Paaren bildeten, seltener zu längeren Verbänden sich vereinigten und durchweg die beschriebene blasse Hülle besaßen, welche nach der Friedländerschen Methode gut darstellbar war (Kapsel). Bei Färbung nach Gram entfärbten sich alle Kokken. Die kulturelle Untersuchung der Peritonealflüssigkeit und des Herzblutes ergab üppige Reinkulturen von oben beschriebener Beschaffenheit.

Der geschilderte Mikroorganismus stellt mithin einen Streptococcus dar, der durch Bildung von Kapseln und durch eigenartiges Wachstum in Form großer, schleimiger, fadenziehender Kolonieen ausgezeichnet ist. Was seine Beziehungen zur Otitis, aus deren Eiter er isoliert wurde, anlangt, kann man ihn wohl nicht als den Erreger derselben ansehen. Einerseits wuchsen nur 10 solche Kolonieen auf einer Platte, welche zahllose Kolonieen des Streptococcus longus zeigte, andererseits kam er auf der zweiten Platte überhaupt nicht mehr vor. Deshalb glauben wir den gewöhnlichen Streptococcus pyogenes als Urheber der Otitis ansprechen zu müssen.

Würde einerseits die Kapselbildung an den Diplococcus lanceolatus pneumoniae denken lassen — wird derselbe doch u. a. von Lehmann und Neumann als Streptococcus lanceolatus bezeichnet und auch von anderen Autoren (Lingelsheim) zu den Streptokokken gerechnet — so unterscheidet er sich von ihm durch die Form der einzelnen Individuen und durch sein kulturelles Verhalten; er tritt nicht in Lanzettform auf, ist nach Gram schlecht oder gar nicht färbbar und wächst auf allen Nährböden in der eigenartigen schleimigen Form. Aus den zwei letzteren Gründen kann er auch den pyogenen Streptokokken nicht beigezählt werden. Er entspricht vielmehr fast vollkommen dem Streptococcus mucosus capsulatus, wie er in den eingangs erwähnten Arbeiten geschildert wird. Die unter diesem Namen beschriebenen Mikroorganismen unterscheiden sich untereinander in mehreren Eigenschaften, z. B. der Ueppigkeit des Wachstums, in der Länge der gebildeten Ketten, in der mehr oder weniger guten Färbbarkeit der Kapseln, in der Fähigkeit, Milch zu koagulieren (Howard und Perkins fanden diese Fähigkeit nicht) etc.

Unser Stamm zeigte gleichfalls mancherlei Unterschiede, zunächst in seinem Verhalten gegenüber der Gramschen Färbung; alle beschriebenen Stämme, soweit in der Literatur eine Angabe diesbezüglich vorliegt, verhielten sich grampositiv (Longcope, Binaghi, Heim, Buerger, Schuhmacher). Ferner fällt sein üppiges Wachstum auf allen gebräuchlichen Nährböden auf, gegenüber den tautropfenartigen Agarkolonieen von Howard und Perkins und Binaghi, dem schlechten Wachstum auf Agar und in Bouillon nach Schottmüller und Buerger. Endlich betonen fast alle Autoren das rasche Eintrocknen, die besondere Hinfälligkeit und schlechte Uebertragbarkeit der Kolonieen, eine Eigenschaft, welche wir nicht bestätigt fanden. Vielmehr hat unser Stamm im Laufe von 6 Monaten seine Wachstumseigentümlichkeiten nicht geändert, die Kulturen blieben monatelang übertragbar. Es konnte ein Uebergehen in die Wachstumsform einer anderen Kokkenart nicht konstatiert werden, eine Eigenschaft, die auch Schuhmacher beschreibt. Es soll darauf speziell mit Rücksicht auf die Arbeit von Longcope hingewiesen werden, welcher einen Stamm anführt, der anfangs genau wie der Pneumococcus, später dem von Howard und Perkins beschriebenen Streptococcus mucosus entsprechend wuchs. Des-

gleichen erhielten Beitzke und Rosenthal durch längere Fortzüchtung eines Mucosus-Stammes einen von gewöhnlichen Pneumokokken nicht mehr unterscheidbaren Mikroorganismus. Einen derartigen Uebergang konnten wir, wie bereits hervorgehoben, niemals konstatieren, weshalb wir den Streptococcus mucosus vom Diplococcus lanceolatus vollständig abgrenzen müssen.

In dieser Hinsicht wurde auch das Verhalten dieses Streptococcus auf Blutnährböden verwertet. Nach den Beobachtungen von Sternberg, die von Boxer an einem größeren Untersuchungsmaterial bestätigt wurden, bildet der Diplococcus pneumoniae auf dem nach Voges hergestellten Blutagar — wobei dem auf 100° erhitzten Agar einige Tropfen Pferdeblut zugesetzt wurden — eine ganz charakteristische eigelbe bis gelbgrüne Verfärbung, die im allgemeinen den Streptokokken nicht zukommt; nur wenige Streptokokkenstämme verursachen eine leichte Gelbfärbung[1]). Unser Streptococcus mucosus ließ dieselbe stets vermissen und unterscheidet sich auch hierdurch scharf vom Pneumococcus.

Wir prüften sein Verhalten auf Blutnährböden nach dem Vorgange Boxers, indem wir sowohl dem auf 100° C erhitzten, sowie dem auf 45° abgekühlten Agar einige Tropfen Pferdeblut bezw. eine größere Blutmenge (im Verhältnis 2:5 nach Schottmüller) zusetzten, woraus also 4 Nährböden resultierten. Das Wachstum gestaltete sich folgendermaßen:

45° { Viel Blut: Ueppiges, schleimiges Wachstum, die Kolonieen nach 24 Stunden 6—7 mm breit, grauweiß, flacher als auf Agar. Der Nährboden auch nach mehreren Tagen unverändert, keine Spur von Aufhellung.
Wenig Blut: Nach 24 Stunden zartere, flächenhaft ausgedehnte, 6—7 mm breite Kolonieen von grauweißem Aussehen. Der Nährboden unverändert.

100° { Viel Blut: Zarte breite Kolonieen. Der Nährboden unverändert.
Wenig Blut: Sehr zarte, fast durchsichtige breite Kolonieen. Der Nährboden unverändert.

In ähnlicher Weise wurden Bouillonröhrchen einerseits bei 100°, andererseits bei Zimmertemperatur mit Blut versetzt und mit einer Oese

1) Schuhmacher erkennt diese Unterscheidung nicht an, indem er sagt (l. c.): „Die Ansicht Boxers, der dem Diplococcus die Fähigkeit zuspricht, eine Eigelbfärbung des Blutagars hervorzurufen, während Streptokokken eine blutfarbstofflösende Wirkung haben sollen, konnte nicht bestätigt werden, da der Streptococcus viridans gerade die für die Diplokokken reservierte Eigenschaft hatte. (Ich vermute, daß diese „Eigelbfärbung" dasselbe ist, was Schottmüller in nach meiner Erfahrung nicht ganz zutreffender Art als „grüngrauen Belag" beschreibt; es handelt sich dabei aber um eine Umwandlung des Blutfarbstoffes, wodurch dieser undurchsichtig grüngrau oder grüngelblich wird)."

Ich möchte hierzu bemerken, daß die eigelbe Verfärbung des Blutnährbodens, wie sie durch den Diplococcus lanceolatus erzeugt wird, gewöhnlich so intensiv ist, daß sie mit einem „grüngrauen Belag" meines Erachtens nicht verwechselt werden kann. Ich möchte aber besonders betonen, daß das regelmäßige Auftreten dieser Eigelbfärbung, wie Boxer ausdrücklich angibt, nur auf den nach Voges hergestellten Blutplatten (100-grädiger Agar, wenige Tropfen Blut) zu konstatieren ist; ich weiß nicht, ob Schuhmacher mit solchen Blutplatten gearbeitet hat; nach der vorliegenden Publikation scheint dies nicht der Fall zu sein. Daß aber auch auf dem in der angegebenen Weise hergestellten Blutnährboden ausnahmsweise auch einzelne Streptokokkenstämme eine, wenn auch nur leichte Gelbfärbung verursachen, hat Boxer gleichfalls bereits mitgeteilt und besprochen. Zahlreiche weitere Untersuchungen, die wir seit dem Erscheinen der Arbeit Boxers angestellt haben, haben dieselben Resultate ergeben, wie sie in dieser Arbeit mitgeteilt sind, weshalb wir die Schlußfolgerungen Boxers — trotz der Einsprache Schuhmachers, die sich offenbar auf nicht in der gleichen Weise ausgeführte Untersuchungen stützt — in ihrem ganzen Umfange aufrecht halten. Dr. Sternberg.

Mucosus-Kultur beschickt. Die Blutbouillon änderte durch viele Tage ihr Aussehen nicht, speziell eine grüne Verfärbung oder ein grüner Wandbeschlag konnte nicht wahrgenommen werden.

Zu ziemlich übereinstimmenden Resultaten — namentlich was die mangelnde Hämolyse betrifft — gelangten auch die übrigen Autoren, die das Wachstum des Streptococcus mucosus auf Blutnährböden prüften. Kleine Abweichungen ergeben sich insofern, als z. B. Schottmüller auf Blutagar einen glänzenden, saftig schleimigen, grüngrauen Belag beschreibt, hingegen keine Hämolyse oder solche erst nach vielen Tagen sah; Blutbouillon wurde grünlich verfärbt. Letzteres fanden auch Beitzke und Rosenthal und Schuhmacher; nur dieser letztere erhielt auf Blutagar zunächst eine „schmutzig grüngraue Färbung des Blutfarbstoffes und nach 2—3 Tagen in schmaler Zone um die Kolonie Aufhellung." Sonst beobachtete keiner der Autoren eine Aufhellung des Nährbodens, eine Hämolyse.

Es ist dies Verhalten vielleicht bemerkenswert im Hinblick darauf, daß man neuerdings versucht hat, das Verhalten der Streptokokken auf Blutnährböden in Beziehung zu ihrer Pathogenität zu bringen. Schon Marmorek hat dem Streptococcus „als unterscheidendes Merkmal" die Fähigkeit zuerkannt, die roten Blutkörperchen in den Gefäßen selbst aufzulösen, und gefunden, daß diese Fähigkeit in geradem Verhältnis mit der Virulenz wächst. „Je virulenter ein Streptococcus ist, um so rascher und besser löst er das Blut im Körper seines Wirtes." In der Arbeit Schottmüllers, die die Anregung für eine Reihe einschlägiger Untersuchungen bildete, findet sich gleichfalls ein Hinweis darauf, indem der hämolytisch wirkende Streptococcus (longus) erysipelatis von dem nicht blutauflösenden Streptococcus mitior seuviridans abgegrenzt wird; ersterer wird als Erreger der gewöhnlichen septischen und Eiterprozesse dem letzteren, der nur milde verlaufende Krankheiten hervorruft, gegenübergestellt.

Demgegenüber führten die Untersuchungen Boxers zu dem Schluß, daß „eine Unterscheidung einzelner Streptokokkenarten mit bestimmter ätiologischer Bedeutung je nach ihrem Verhalten auf Blutnährböden ... unmöglich erscheint". Bei Prüfung von 16 Streptokokkenstämmen, die von Scharlachfällen herrührten, veränderten 9 den mit Menschenblut hergestellten Blutagar nicht, 7 zeigten Hämolyse. Bei Verwendung von Pferdeblut bewirkten nur 2 Stämme Hämolyse. Bei einer anderen Untersuchungsreihe zeigten 47 Streptokokkenstämme verschiedener Provenienz regelmäßig Hämolyse.

Nach diesen Resultaten Boxers verhielten sich also selbst Streptokokken der gleichen Provenienz auf Blutnährböden verschieden; somit konnte die Hämolyse nicht als Kennzeichen der Pathogenität aufgefaßt werden.

Beitzke und Rosenthal kamen in einer späteren Untersuchung in der Hauptsache zu dem gleichen Schluß wie Boxer: „Als Grundlage zur Unterscheidung verschiedener Arten der Streptokokken ist das Vorhandensein oder Fehlen der blutlösenden Fähigkeit ebensowenig wie alle sonstigen bisher herangezogenen Eigentümlichkeiten geeignet, da sie eine variable Eigenschaft darstellt." Bei ihren Versuchen verloren Stämme des Streptococcus longus durch Fortzüchtung ihre blutlösende Fähigkeit, während andererseits Kulturen des Streptococcus mitior nach Tierpassage hämolytisch wirkten.

Im Gegensatz hierzu ergaben sich für Baumann nach Prüfung von 46 Streptokokkenstämmen folgende Schlußfolgerungen:

1) Auf Schottmüllerschem Blutagar bilden nur sicher pathogene Streptokokken vom Typus des Streptococcus longus einen deutlichen Resorptionshof, während die aus Milch, Speichel und Stuhl isolierten Stämme keine Hämolyse auf diesem Nährboden zeigen. (Es handelt sich hier offenbar um Pathogenität für Menschen.)

2) Die nicht hämolytischen Streptokokken bilden auf Blutagar teils grünen Farbstoff, teils nicht; eine Gesetzmäßigkeit ist hierbei nicht festzustellen."

Daß diese Sätze nicht allgemeingültig sein können, beweisen die vorerwähnten Resultate, die Boxer an Scharlachstämmen erhielt; ob diese Streptokokkenstämme in der Aetiologie des Scharlachs eine pathogene Rolle spielen oder nicht: sie zeigten teils Hämolyse, teils Gelbfärbung, teils beides, teils keine Veränderung des Nährbodens, also die größte Mannigfaltigkeit im Verhalten.

Betrachten wir den Streptococcus mucosus in dieser Hinsicht, so können wir folgendes hervorheben: Unser Stamm, der wohl nicht als Erreger der Otitis anzusehen war, ließ Blutnährböden unverändert. Die meisten Autoren konstatierten fehlende Hämolyse und fast durchweg die grüne Farbstoffbildung auf Schottmüllerschem Blutagar.

Von Schottmüllers Stämmen z. B. rührten 3 von eiteriger Meningitis, und bei einer weiteren Untersuchungsreihe 6 von krupöser Pneumonie her. Er fand regelmäßig das erwähnte grüne Wachstum auf Blutagar und in Blutbouillon, hingegen keine Hämolyse oder solche erst nach vielen Tagen. Otten züchtete 6 Mucosus-Stämme von akuten Erkrankungen, einen von einem chronisch verlaufenden Falle, sämtliche entsprachen vollkommen dem Schottmüllerschen Mucosus-Typus. Auch E. Fränkel isolierte alsErreger einer echten krupösen Pneumonie einen Streptococcus mucosus, der auf Blutagarmischplatten einen grünen Farbstoff bildete. Dieselbe grünliche Verfärbung auf Blutagar und in Blutbouillon führen Beitzke und Rosenthal an.

Nur Schuhmacher sah Hämolyse und zwar gerade bei nicht pathogenen Stämmen; denn unter seinen 11 Stämmen kann nur ein einziger als Erreger an einer Meningitis aufgefaßt werden. Tierpathogen verhielten sich aber fast sämtliche beschriebenen Stämme.

Wittmaack, der unter 55 Fällen akuter Otitis media 3mal den Streptococcus mucosus als Erreger nachwies, beschreibt leider dessen Verhalten auf Blutnährböden nicht genauer. Doch ist anzunehmen, daß er keinen Unterschied gegenüber den Schottmüllerschen Angaben fand, also keine Hämolyse sah[1]).

Fassen wir das Gesagte zusammen, so ergibt sich:

Der Streptococcus mucosus wächst auf Blutnährböden teils mit teils ohne Hämolyse, teils mit teils ohne Bildung eines grünen Farbstoffes, unabhängig davon, ob er pathogen (für Menschen) ist oder nicht.

Es kann daher aus seinem Verhalten auf Blutnährböden kein Schluß auf seine Pathogenität gezogen werden, gerade so wie dies

---

1) Nachtrag. In einer während der Drucklegung dieser Mitteilung erschienenen Arbeit teilt Süpfle (diese Zeitschr. Bd. XLII) mit, daß er in 5 Fällen von akuter Otitis media den Streptococcus mucosus fand; die Farbe der Kolonieen auf Blutagar war bald mehr hell-, bald mehr dunkelgrün; bei einem Stamm (unter 7) fand sich in der Umgebung der hellgrünen Kolonie ein schmaler Hof derselben Farbe; 2 Stämme zeigten nach 48 Stunden einen schmalen hämolytischen Saum.

für die pyogenen Streptokokken in mehreren Untersuchungen festgestellt ist.

Seit E. Fränkel auf die Vorzüge des Lackmusmilchzuckeragars (nach v. Drigalski und Conradi) zur Unterscheidung der Streptokokkenarten und der Pneumokokken hingewiesen, wurde allgemein auch der Streptococcus mucosus auf diesem Nährboden geprüft und übereinstimmend (Schottmüller, Beitzke und Rosenthal, Schuhmacher) angegeben, daß er die blaue Farbe des Nährbodens nicht verändere. Auch der vorstehend geschilderte Stamm entsprach diesem Verhalten; er wuchs in üppigen, saftigen Kolonieen ohne Veränderung der blauen Farbe.

Literatur.

1) Baumann, Beiträge zur Unterscheidung der Streptokokken. (Münch. med. Wochenschrift. 1906. No. 25.)
2) Beitzke und Rosenthal, Zur Unterscheidung der Streptokokken mittelst Blutnährböden. (Arbeiten aus dem Patholog. Institut zu Berlin.)
3) Besser, über die Bakterien der normalen Luftwege. (Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Path. Bd. VI. p. 357.)
4) Bonome, zur Aetiologie der Meningitis cerebrospinalis epid. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. p. 377.)
5) Boxer, Ueber das Verhalten von Streptokokken und Diplokokken auf Blutnährböden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 591.)
6) —, Blutnährböden zur Differenzierung der Streptokokken und Pneumokokken. (Verhandlg. der deutsch. pathol. Gesellschaft. IX. Tagung. 1905. p 24.)
7) Buerger, Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XI. p. 314.)
8) Fränkel, E., Ueber menschenpathogene Streptokokken. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 12 u. 30.)
9) Heim, Beobachtungen an Streptococcus mucosus. (Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. L. 1905. p. 139.)
10) Hlava, Leuconostoc hominis und seine Rolle etc. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 263.)
11) Howard und Perkins, Streptococcus mucosus etc. (The Journal of med. Research. Vol. VI. 1901.)
12) Longcope, Streptococcus mucosus and its relations etc. (The Journal of med. Research. Vol. VII. 1902. p. 220.)
13) Otten, Beitrag zur Pathogenese des Streptococcus mucosus. (D. Archiv f. Kl. Med. Bd. LXXXVI. p. 434.)
14) Schottmüller, Die Artuntersuchung der für den Menschen pathog. Streptokokken etc. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20 u. 21.)
15) —, Zur Aetiologie der Pneumonia crouposa. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 19 u. 30.)
16) Schuhmacher, Ueber den Streptococcus mucosus und seine Unterscheidung von anderen Streptokokken. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 628.)
17) Wittmaack, Zur Kenntnis des Streptococcus mucosus etc. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 31.)

Beitrag zur Frage der aufsteigenden Tuberkuloseinfektion des Harnapparates.

[Aus dem Laboratorium für allgemeine Pathologie der kgl. Universität zu Turin (Direktor: Prof. B. Morpurgo).]

Erste Mitteilung.

Von Dr. **R. Giani,** Dozent der speziellen chirurgischen Pathologie.

In meiner vorläufigen Mitteilung über diesen Gegenstand auf der letzten Vereinigung der italienischen Pathologen zu Rom schloß ich dahin, daß „die Blasenschleimhaut, auch wenn sie sich im Zustande chronischer Reizung befindet, schwerlich bei nicht diskontinuierlichem Epithel zum Sitz des Fortkommens von Tuberkelbacillen werden kann, und daß jedenfalls bei kontinuierlichem und vollständigem Harnabfluß der Aufstieg der Tuberkulosekeime von der Blase nach der Niere längs des Harnleiterlumens außerhalb der Blutbahn für unmöglich angesehen werden mußte".

Indem ich nun diese erste Mitteilung der Veröffentlichung übergebe, möchte ich über die damaligen Versuche und über die weiteren, die späterhin einander folgten, ausführlicher Rechenschaft geben.

Um den älteren und neueren Einwürfen, die nach und nach gegen diese Art von Experimenten erhoben worden sind, vorzubeugen, setzte ich mir von vornherein die Erlangung zweier Dinge zum Ziel, und zwar: Ein längeres Verweilen des tuberkulösen Keimes in der Blase und eine derartige Einführung desselben in diese, daß dadurch jedwede direkte mechanische Einimpfung vermieden würde, oder die es mir ermöglichte, wenigstens mit aller Sicherheit feststellen zu können, was auf mechanische Impfung zurückzuführen war und was dem weiteren Fortkommen des Kochschen Bacillus in den Harnwegen zugehörte.

Ich griff daher stets zu dem suprapubischen Blasenschnitt, dem ich unmittelbar die Vernähung der inzidierten Wände nach Lembert nachschickte. Wenn sich so die Ansteckung während des Operationsaktes mechanisch in dem Gebiete der Blasenwunde festgesetzt hätte, so hätte ich nachher den Beweis dafür darin bekommen, daß ich die tuberkulösen Läsionen, welche sich eventuell in der Blase kundgegeben haben würden, primär in dem Umkreis der Narbe entwickelt gefunden hätte. Und zusammen mit diesem, sagen wir, topographischen Vorteil hatte ich einen anderen, ebenfalls wesentlichen Vorteil, den nämlich, daß die Harnentleerungswege durchgängig erhalten wurden und dem Tiere es ermöglicht wurde, frei, auch sofort nach dem Operationsakt, Harn zu lassen.

Als Beförderungsmittel für den Kochschen Bacillus bediente ich mich einer doppelten, ineinander gesteckten Celloidinröhre von ungefähr 2 zu 1 cm Durchmesser, die vorher durch Aufkochen sterilisiert wurde und im Feuer überall etwas gelöchtert wurde, derart, daß der Urin in derselben frei ein und austreten konnte.

Eine jede dieser Röhren, welche durch die suprapubische Bresche in die Blase eingeführt wurde, war fast mit der ganzen Patina einer 20—25tägigen Tuberkulosekultur in Blutagar oder Glycerinagar beladen, vermischt mit einer kleinen Menge Nährboden.

Die verwendete Kultur war aus tuberkulösen Kaninchen gewonnen worden und tötete ein Meerschweinchen in 20 Tagen.

Versuche[1].

Erste Reihe. — Drei Versuche.

1.	Kaninchen, Männchen.	Gewicht	2,200 kg.
2.	„ „	„	2,300 „
3.	„ „	„	2,600 „

Cystotomia suprapubica nach einander an jedem der 3 Kaninchen, Einlegen der mit kultureller, von zwei Tuberkulosekulturen in Blutagar stammender Patina angefüllten Celloidinröhre in die Blase.

(Injektion einer kleinen Menge des für die Versuche dieser ersten Reihe verwandten Kulturmaterials in die Peritonealhöhle eines Meerschweinchens. Das Meerschweinchen verendet nach 20 Tagen an typischer Miliartuberkulose des Bauchfells und der Bauchorgane.)

Nach 20 Tagen:

Die Kaninchen haben stets gut uriniert; der Urin ist in den ersten 24 Stunden blutig gewesen, darauf hat er sein gewöhnliches Aussehen wiedererlangt. Die bakterioskopische Untersuchung desselben auf den Kochschen Bacillus ist bei allen 3 Kaninchen positiv.

(Injektion von 2 ccm Urin des Kaninchens No. 3 in das Unterhautzellengewebe eines Meerschweinchens, dasselbe verendet nach 2 Monaten mit Ulceration an der Impfungsstelle, Verkäsung der benachbarten Lymphdrüsen und zahlreichen Tuberkelknötchen im Netz, in der Milz und in der Leber.)

Nach 35 Tagen:

Kaninchen 1 wiegt 2,270 kg.
„ 2 „ 2,300 „

Sie werden geopfert.

Makroskopischer Befund. Laparotomie- und Blasenwunde vollkommen vernarbt. Keine Spur von Tuberkulose weder an der Außenfläche der Blase, noch an dem visceralen oder parietalen Peritoneum; ebensowenig an der Milz, der Leber, den Lungen. Harnleiter und Nieren sind von normalem Aussehen, ebenso die Samengänge und die Hoden. Blase fast leer, etwas kontrahiert. Celloidinröhre frei in der Blasenhöhle, zum Teil bekleidet mit Schleimflocken und stellenweise mit Kalksalzen inkrustiert; sie enthält einen formlosen halbflüssigen Brei. Blasenschleimhaut etwas gerötet, aufgeschwollen, nicht ulceriert.

Mikroskopischer Befund. Die bakterioskopische Untersuchung des um die Celloidinröhre herum stagnierenden Urins auf den Kochschen Bacillus ist positiv. Der in ihr vorgefundene Brei gibt bei der mikroskopischen Beobachtung zahllose Tuberkelbacillen. Die Blase zeigt die charakteristischen Merkmale einer diffusen, bald mehr bald weniger ausgeprägten Entzündung zu Lasten der Unterschleimhaut und der Schleimhaut, welche überall ununterbrochen ist. Nichts an dem ganzen Blasenumkreis, was auch nur entfernt auf Läsionen tuberkulöser Natur hinwiese.

Die Harnleiter normal, ebenso die Nieren.

(Injektion eines Teils des mit sterilem Wasser verdünnten Celloidinröhreninhalts des 1. Kaninchens in die Peritonealhöhle eines Meer-

1) Der Klarheit und Kürze halber habe ich alles, was sich auf die ausgeführten Kontrollproben bezieht, zwischen zwei Klammern gesetzt.

schweinchens. Dasselbe verendet nach 30 Tagen an typischer Eingeweidetuberkulose.)

Nach 50 Tagen:

Kaninchen 3 wiegt 2,700 kg. Es wird geopfert.

Makroskopischer Befund. Laparotomie- und Blasenschnitt vollkommen vernarbt. Kein Tuberkelknötchen weder an der Außenfläche der Blase, noch am Peritoneum, noch in den Unterleibs- und Brustorganen. Blase durch Flüssigkeit mäßig gedehnt; die überall etwas mit Kalksalzen inkrustierte Celloidinröhre ist noch frei in derselben und enthält wenig formlosen Brei. Blasenschleimhaut nicht sehr gerötet, ununterbrochen.

Mikroskopischer Befund. Die Untersuchung des in der Blase vorgefundenen Harns zeigt keine Kochschen Bacillen. Die mit einer Oese voll Celloidinröhrcheninhalts erhaltenen Präparate dagegen zeigen viele noch gut erhaltene Tuberkelbacillen.

Die Blasenschleimhaut ist nirgends ulceriert; zwischen ihren Epithelzellen ist die Infiltration von Leukocyten, die nach der Blasenhöhlung hin sich Bahn zu brechen streben, stark ausgesprochen. Die etwas mehr als normal hohe Submucosa ist reich an sämtlich mit Blut angefüllten Gefäßen und in ihren Maschen ist die kleinzellige Infiltration eine sehr lebhafte.

Nirgends eine Spur von spezifisch tuberkulösen Läsionen.

Harnleiter und Nieren normal; ebenfalls die Samenbläschen normal, die Prostata, die Samengänge, die Hoden.

(Intraperitoneale Injektion des mit sterilem Wasser verdünnten Celloidinröhreninhalts in ein Meerschweinchen. Tod des Tieres am 25. Tage an Miliartuberkulose des Peritoneums.)

Zweite Reihe. — Zwei Versuche.

4. Kaninchen, 2,800 kg.
5. „ 2,400 „

Operation der beiden Tiere nach der in der 1. Reihe angewandten Technik.

(In das Peritoneum eines Meerschweinchens injiziere ich eine kleine Menge des verwandten Kulturmaterials, mit sterilem Wasser aufgeschwemmt. Das Meerschweinchen geht am 22. Tage an verallgemeinerter Miliartuberkulose ein.)

Nach 30 Tagen:

Bakterioskopische Untersuchung des Urins der beiden Kaninchen positiv für den Kochschen Bacillus.

(Injektion von ca. 2 ccm Harn des Kaninchens 4 in das Unterhautzellgewebe eines Meerschweinchens. Dasselbe verendet nach $2^1/_2$ Monaten an diffuser Tuberkulose, besonders der Unterleibsorgane, nachdem es tuberkulöse Ulceration der Impfungsstelle und Erweichung der benachbarten Lymphdrüsen gezeigt hatte.)

Nach 50 Tagen:

Tötung des Kaninchens 4. Gewicht 2,950 kg.

Makroskopischer Befund. Keine Spur von Tuberkulose in der Peritonealhöhle und in den in dieser enthaltenen Organen. Die Blase ist frei von Verwachsungen, stark durch den Urin gedehnt; die Celloidinröhre ist in ihrer Höhlung nicht mehr vorhanden, die Blasenschleimhaut ist ununterbrochen und rosafarben.

Mikroskopischer Befund. Nichts Bemerkenswertes außer

einem mäßigen Grade von Phlogose in der Submucosa. Die Harnleiter und Nieren, die Samenbläschen, Samenleiter und Hoden normal.

Nach 50 Tagen:

Tötung des Kaninchens 5. Gewicht 2,000 kg.

Makroskopischer Befund. — Hautwunde vernarbt, kräftige Verwachsungen zwischen Bauchwänden, Netz und Dickdarm mit der ventralen Fläche der Blase an der Stelle, in die der Blasenschnitt gefallen war; höchst zahlreiche, weißglänzende oder bräunliche Miliarknötchen auf der ventralen Fläche der Blase, auf dem visceralen, den Dickdarm und die der Blase selbst nächst gelegenen Darmschlingen überziehenden Peritoneum; ebenfalls zahlreiche Knötchen im Netz und auf dem Gekröse, spärlich im parietalen Peritoneum, besonders entfernt von der Blase. Weder an der Milz noch an den Nieren und der Leber ist ein Tuberkelknötchen sichtbar; nichts in der Brusthöhle und in den darin enthaltenen Organen.

Blase mäßig durch die Flüssigkeit gedehnt; in der Blasenhöhlung ist die Celloidinröhre nicht mehr vorhanden; die Blasenschleimhaut erscheint gerötet, aufgeschwollen, jedoch ohne irgend welche Spur von Ulceration.

(Mit steril gesammelten Stückchen der Milz, Leber, Nieren und Lungen werden Impfungen in Blutagar und in Glycerinagar gemacht. Die Kulturen bleiben definitiv steril.)

Mikroskopischer Befund. Der Blasenschleimhautepithelsaum ist überall kontinuierlich und ziemlich gut erhalten; zwischen den verschiedenen Zellenelementen beobachtet man Leukocyten in ziemlicher Anzahl, welche die Blasenhöhlung zu erreichen streben; die Unterschleimhaut ist sehr hoch und erheblich hyperämisch; eine intensive kleinzellige Infiltration füllt ihre bindegewebigen Maschen aus und greift auch auf die Tunica muscularis über, besonders in der Nachbarschaft der Narbe, welche noch nicht vollkommen konsolidiert ist.

Zusammen mit den vielen Einwanderungselementen, welche am häufigsten isoliert sind, zuweilen hingegen sich anhäufen, wie zur Bildung von kleinen Miliarabscessen, sieht man hier und da, besonders in der Unterschleimhaut, Gruppen von Plasmazellen. Ebenfalls in großer Anzahl beobachtet man in derselben auf dem ganzen Narbenareal und auch in einiger Entfernung davon ungeordnet bis in die Serosa bald freie Riesenzellen, bald junge Tuberkel, oft auch kleine Verkäsungsherde.

Nichts Bemerkenswertes bei der histologischen Untersuchung der beiden Nieren und nichts Anormales im Hoden.

Dritte Reihe. — Vier Versuche.

6.	Kaninchen,	Männchen.	Gewicht	2,800 kg.
7.	„	„	„	2,505 „
8.	„	„	„	2,700 „
9.	„	„	„	2,750 „

Operation wie bei den zwei anderen Reihen an allen 4 Kaninchen unter Verwendung von Kulturen desselben Alters und von dem nämlichen Stamm herrührend.

(Injektion einer kleinen Quantität des benutzten Kulturmaterials in das Peritoneum eines Meerschweinchens. Dasselbe geht nach 20 Tagen an äußerst schwerer peritonealer Tuberkulose zu Grunde.)

Nach 20 Tagen:

Die bakteriologische Untersuchung des Urins der 4 Kaninchen ist positiv für den Kochschen Bacillus.

Nach 75 Tagen:

Tötung der Kaninchen 6 und 7, welche um ungefähr je 150 gr. zugenommen haben.

Makroskopischer Befund. Vollkommene Vernarbung der Laparotomie- und Blasenwunde, die mit bloßem Auge kaum noch zu erkennen ist.

Nichts Bemerkenswertes im visceralen und parietalen Peritoneum und an den Unterleibsorganen; nichts zu Lasten der Brusteingeweide.

Die Blase ist mit Harn angefüllt, die noch in beiden vorhandene Röhre ist vollkommen mit Kalksalzen inkrustiert und kann frei bewegt werden. Die Blasenschleimhaut ist rosafarben, glatt und überall ununterbrochen.

Mikroskopischer Befund. Der wenige in den beiden Celloidinröhren noch vorgefundene Brei zeigt, mikroskopisch untersucht, ganz und gar keine Kochschen Bacillen.

Nichts Bemerkenswertes in den beiden Blasen, außer einem ganz leichten Grade von Verdickung der Submucosa, in der man im Verein mit einer spärlichen leukocytären Infiltration leichte Proliferationserscheinungen ihrer fixen Zellen beobachtet; das Bekleidungsepithel ist gut erhalten, überall kontinuierlich.

Normal das mikroskopische Aussehen der Harnleiter und der Nieren, wie auch das der Hoden eines jeden Kaninchens.

Nach 90 Tagen:

Tötung der Kaninchen 8 und 9, von denen ein jedes um ungefähr 200 gr. zugenommen hat.

Beim Kaninchen 8 ist die Celloidinröhre zum Mittelpunkt eines umfangreichen Steines geworden und liegt frei in der Blasenhöhlung; bei dem anderen ist sie nicht mehr vorhanden.

Die wenigen breiigen, in der Röhre des Kaninchens 8 noch vorgefundenen Detriti sind bei der bakterioskopischen Untersuchung negativ für den Kochschen Bacillus.

Die makro- und die mikroskopischen Befunde sind den bei den Kaninchen 6 und 7 beschriebenen ganz ähnlich; auch bei diesen in keinem Organ eine Spur von Läsionen, welche auch nur entfernt an die tuberkulösen erinnerten.

Vierte Reihe. — Vier Versuche.

10.	Kaninchen,	Männchen;	2,600 kg.
11.	„	„	2,000 „
12.	„	„	2,544 „
13.	„	„	2,620 „

Die Einführung des durch nach Herkunft und Alter gleiche Kulturen gebildeten Tuberkulosematerials in die Blase wurde mit derselben Technik wie bei den vorhergehenden Reihen ausgeführt.

Gleichzeitig unterband ich bei den Kaninchen 10 und 11 endgültig die Nierenvene auf einer Seite (der linken).

(Eine kleine Quantität der Kultur, welche zu den eben erwähnten Versuchen diente, wird in das Peritoneum eines Meerschweinchens injiziert. Dasselbe geht am 18. Tage mit Miliartuberkulose der Eingeweide ein.)

Nach 30 Tagen:

Die Kaninchen befinden sich alle wohl, urinieren normal. Die bakterioskopische Untersuchung des Urins von einem jeden zeigt spärliche Tuberkelbacillen.

Nach 120 Tagen:

Tötung der Kaninchen 10 und 11; ein jedes hat um ungefähr 300 gr. an Gewicht zugenommen.

Makroskopischer Befund. Bauchwunde kaum noch erkennbar; normal das parietale und viscerale Peritoneum; Blase nicht verwachsen und stark durch den Harn gedehnt.

Nichts Anormales an der Außenfläche, in der man den alten Schnitt nicht mehr erkennt.

Die Celloidinröhre ist beim Kaninchen 10 noch in der Blase und ist zum Mittelpunkt eines ziemlichen Steines geworden; sie ist frei; beim anderen Kaninchen findet sie sich nicht mehr. Die Blasenschleimhaut ist überall kontinuierlich und glatt; von normalem Aussehen beim Kaninchen 11, kaum gerötet beim Kaninchen 10.

Nichts zu Lasten der Samenbläschen, der Prostata, der Samenleiter und der Hoden.

Die rechte Niere erscheint leicht vergrößert; die linke ist kleiner und hat einige nicht sehr kräftige Verwachsungen mit den umliegenden Geweben eingegangen; ihre Faserkapsel reißt, hier und da sich loslösend, kleine Stückchen Nierenparenchym ab. Die Rindensubstanz ist blässer und scheint auch etwas an Volumen zurückgegangen; die Marksubstanz ist weiß mit perlmutterartigen Reflexen, ihr Volumen scheint unverändert.

(Nach Spaltung des in der Blase des Kaninchens 10 vorgefundenen Steines und Untersuchung des Röhreninhalts unter dem Mikroskop war es nicht möglich, Kochsche Bacillen nachzuweisen.)

Mikroskopischer Befund. Nichts Bemerkenswertes in der Blase außer einem leichten Grade von kleinzelliger Infiltration in der Unterschleimhaut, welche beim Kaninchen 10 etwas verdickt ist.

Normal die rechte Niere, ebenso die linke, mit Ausnahme an einigen ordnungslosen Strecken, an denen ein noch zellenreiches Bindegewebe, welches sich direkt in die Faserkapsel fortsetzt und durch die Rindensubstanz hindurch bis zur Marksubstanz eindringt, Zonen von Nierenparenchym obliteriert hat.

Keine Spur von tuberkulösen Läsionen in den beiden Nieren, den Samenbläschen, dem Samengang und den Hoden.

Nach 120 Tagen:

Tötung der Kaninchen 12 und 13; ein jedes hat um ungefähr 250 gr. an Gewicht zugenommen.

Makroskopischer Befund. Identisch mit dem der Kaninchen 10 und 11, was die Bauchwände und Höhle angeht.

Die in einen umfangreichen Stein verwandelte Celloidinröhre ist bei jedem Kaninchen frei in der Blase.

Blasenschleimhaut rosafarben, glatt, überall kontinuierlich.

(Die bakterioskopische Untersuchung des noch in der Röhre vorhandenen Materials negativ für den Kochschen Bacillus.)

Mikroskopischer Befund. — Von dem für die Kaninchen 10 und 11 angegebenen nicht verschieden. Vollständig negativ in Hinsicht auf tuberkulöse Läsionen sowohl der Blase als der Nieren, wie auch des Geschlechtsapparats.

Ist es mir vor allen Dingen gelungen, bei den eben mitgeteilten Experimenten jene Versuchsbedingungen zu erlangen, die ich mir eingangs zum Ziel gesetzt hatte?

Rührte doch das benutzte Tuberkulosematerial — bei jeder Ver-

suchsreihe stets dasselbe — von an Tuberkulose verendeten Kaninchen her und war von zweifelloser Virulenz, da es Meerschweinchen in 20 Tagen tötete. Auch hat diese Virulenz ganz und gar nicht abgenommen oder ist mit dem allmählichen Abrücken von dem Beginn des Experiments erloschen; nach 35 Tagen (Kaninchen 1 und 2) wie nach 50 Tagen (Kaninchen 3) war eine kleine, in der Celloidinröhre verbliebene Breimenge, in die Peritonealhöhle eines Meerschweinchens injiziert, im stande, es an typischer Tuberkulose (im Verlaufe von 25—30 Tagen) in gleicher Weise zu töten.

Die bakterioskopische Untersuchung der Urine zwischen dem 25. und 30. Tage der Versuchsdauer ist in jedem Falle für den Kochschen Bacillus positiv gewesen, wie auch die biologische Probe mit dem Urin der behandelten Kaninchen positiv gewesen ist, so oft sie in dieser Zeitperiode ausgeführt worden ist.

Die Tuberkelbacillen waren also bei diesen räumlichen Verhältnissen nicht nur im stande, ihre Virulenz unverändert zu erhalten, sondern konnten die Celloidinröhre frei verlassen, sich in der Blase aufhalten, sich mit dem Urin vermischen und mit diesem nach außen entleert werden.

Ich habe gesagt, sich in der Blase aufhalten, nicht schon, weil die freie Harnentleerung in irgend einer Weise gehindert wäre, da die Kaninchen auch sofort nach dem Operationsakt und in der Folge immer ihre Blase zuzammenziehen und entleeren konnten, sondern weil zwischen der Celloidinröhre und der Schleimhaut, welche sich nischenartig um diese herum anordnete, leicht etwas Urin stagnierte, zusammen mit Schleimflocken, einigen Einwanderungselementen, Ueberresten von Epithelaufblätterung und den Kalksalzen, die sich dort absetzten, eine Art von halbflüssigem Brei bildend, auf dem die Röhre selbst beständig auflag und teilweise auch in ihm untergetaucht war.

Mit diesem Brei vermischte sich das Tuberkulosematerial nach und nach, wie es aus der Celloidinröhre austrat, leicht, auch mußte nicht alles bei der ersten Entleerung ausgeschieden werden, wenn man bedenkt, daß bei den 35 Tage nach dem Operationsakt getöteten Kaninchen (1—2) die bakteriologische Untersuchung des halbflüssigen, in der Blase stagnierenden Materials noch positiv für den Kochschen Bacillus ausfiel.

Nur 4 von meinen 13 Kaninchen gelang es, die Celloidinröhre über den 20. Tag hinaus durch die Harnröhre auszustoßen (ich sage über den 20. Tag hinaus, ohne genauer präzisieren zu können, da ich den Urin weiterhin nicht gesondert aufgefangen habe, indem die nach 20 Tagen vorgenommene bakterioskopische Untersuchung des Harns dieser Kaninchen für den Kochschen Bacillus positiv ausgefallen ist), bei allen anderen inkrustierte sich dieselbe ziemlich rasch mit Kalksalzen und verwandelte sich schließlich in einen umfangreichen Stein, welcher durch seine Anwesenheit in der Blasenhöhle die Schleimhaut und Unterschleimhaut in einem bald mehr, bald weniger ausgesprochenen Grad chronischer Irritation erhielt, ohne jedoch zu Ulcerationen oder zu einer eigentlichen eitrigen Cystitis Veranlassung zu geben.

Angesichts dieser tatsächlichen Verhältnisse, das heißt Cystitis und Stein, ist es nicht ganz unangebracht, zu denken, daß während des Fortschreitens des Versuchs von Zeit zu Zeit sich etwas Urinstauung in dem Harnleiter und dem Nierenbecken festsetzen mußte; Urinstauung, die jedoch leicht durch den Ureteraltonus zu überwinden und jedenfalls nicht derartig schwer oder andauernd war, um Aenderungen in den

Harnleiterwandungen und der Niere hervorzurufen, die bei der Sektion hätten wahrgenommen werden können.

Ungeachtet also sowohl der Virulenz der angewandten Keime als ihres längeren Verweilens in der Blase und des wahrscheinlich nicht immer ununterbrochenen Laufes des Urins, habe ich doch niemals irgend eine Erscheinung konstatieren können, welche auf Fortpflanzung Kochscher Bacillen in aufsteigender Richtung längs des Harnleiters bis zur Niere hindeutete, in welcher sie, notabene, falls sie dorthin gelangt wären, wenigstens bei zwei Versuchen (Kaninchen 10 und 11) für ihr Fortkommen ausnahmsweise günstige Verhältnisse vorgefunden haben würden.

Dieses Resultat, d. h. der ausgebliebene Aufstieg der Tuberkelbacillen längs des Harnleiters zur Niere, stimmt vollkommen mit dem wiederholt von Baumgarten und seinen Schülern Kraemer, Groschopf etc. erhaltenen überein und bestätigt immer besser das, was Baumgarten in seinen genialen experimentellen Arbeiten über die Tuberkulose des Harn- und Geschlechtsapparates stets behauptet und nachgewiesen hat, d. h. daß der Aufstieg der Tuberkuloseerreger gegen den Strom nicht möglich sei. Wenn es ihm neuerdings im Verein mit Kappis gelungen ist, durch Unterbindung des Harnleiters mit einem mit Kochschen Bacillen verunreinigten Faden zuerst eine Ureteritis, dann eine Pyelitis und zuletzt eine tuberkulöse Nephritis zu erzielen, so ist diese doch — wie die Autoren selbst hervorheben — unter ganz besonderen Verhältnissen geschehen, und zwar mit dem Substrat einer vollkommenen Hydronephrose, mit anderen Worten, bei vollständig aufgehobenem absteigenden Strome. Wenn also, unter besonderen Verhältnissen, die Tuberkelbacillen freilich im Harnapparat einer aufsteigenden, d. h dem normalen Fluß der Flüssigkeit entgegengesetzten Richtung folgen können, so bleibt doch immer noch ihre Fortpflanzung gegen den Strom zu beweisen.

Und zu diesen nämlichen Schlußfolgerungen kommen bei ihren Versuchen auch L. Bernhard und M. Salomon, Götzl, welcher die Lehre Guyons über die aszendente Genesis der Tuberkulose des Harnapparates lebhaft bekämpft, und Hansen, als er, anstatt auf hämatogenem, oder trachealem, oder subkutanem, oder intraperitonealem Wege, versucht hat, die tuberkulöse Nephritis durch direkte Verbringung der Kochschen Bacillen in die Blase zu reproduzieren.

Doch hat mir bei meinen Versuchen nicht nur die Ureteritis und die aszendente tuberkulöse Nephritis versagt, sondern auch die Blasentuberkulose ist mir gänzlich ausgeblieben, obschon die Blase durch den besonderen Zustand der chronischen Irritation, in der sie durch die Anwesenheit des Fremdkörpers erhalten wurde, weniger widerstandsfähig gemacht worden war und demnach dem Fortkommen der Keime einen geeigneteren Boden bot.

Nur in einem Falle (Kaninchen 5) fand sich bei der Sektion eine höchst ausgeprägte, aber auf die ventrale Fläche der Blase, das parietale Peritoneum und die dieser nächst gelegenen Darmschlingen beschränkte Miliartuberkulose. Die mikroskopische Untersuchung wies in der Blase typische tuberkulöse Läsionen längs der ganzen Narbenlinie und in den anliegenden Partieen nach, Läsionen, die ausgeprägter waren gegen die Serosa hin und in der Muscularis als in der Unterschleimhaut.

Die Schleimhaut war immun.

Kein Zweifel, daß in diesem Fall die Tuberkuloseinfektion während des Operationsaktes erfolgt war in dem Augenblicke des Einführens der Celloidinröhre in die Blase. In diesem Sinne spricht die Art und Weise,

wie der tuberkulöse Prozeß selbst auftrat und sich ausbreitete, welchem obwohl er schon die Peritonealhöhle invadiert und kleine Verkäsungsherde in der Muscularis und auch in der Submucosa bedingt hatte, es dagegen doch nicht gelungen war, auch die Schleimhaut anzugreifen, mit der doch wohl virulente Tuberkelkeime bei ihrem allmählichen Austritt aus der Celloidinröhre in Kontakt kommen mußten.

Ich machte also bei diesem Kaninchen, ohne es zu wollen, eine mechanische Einimpfung der Tuberkelbacillen in die Dicke der Blasenwände, eben das, was nachher Savoré bei seinen Versuchen absichtlich getan hat; nichts ist demnach natürlicher, als daß sich die Infektion auf jene Weise kund gab, wie nichts logischer ist, als daß es Savoré rasch und konstant gelang, derartig operierend die Blasentuberkulose hervorzurufen; es hätte vielmehr in dem einen und dem anderen Falle das Gegenteil wunder nehmen müssen, da kein Grund dafür vorhanden ist, daß in der Harnblase die Dinge anders gehen sollten als in den übrigen Organen oder in den übrigen Geweben.

Doch war es eben die Einimpfung d'emblé von Tuberkulosematerial in die Dicke der Blasenwände, welche ich vermeiden wollte; wie ich geflissentlich das entschlossen ausgeschieden habe, was eine ganze Reihe von Forschern, wie Rosving, Hayla, Albarran, Hand, Clado, Guyon u.s.w. und selbst Hansen in einer Serie ihrer Untersuchungen getan hatten, d. h. die absolute Ligatur des Penis, welche der Einführung der Tuberkuloseerreger in die Blase um 24 Stunden vorausging oder ihr um ebensoviel und auch um 36 Stunden folgte, da nach meinem Dafürhalten dies nicht die Art und Weise ist, wie man versuchen soll, Licht in die vielumstrittene Frage nach der aszendenten Tuberkulose des Harnapparats zu bringen.

Indem ich die Frage nach der Möglichkeit, experimentell eine aszendente tuberkulöse Nephritis zu erhalten, gänzlich beiseite lasse, da mir bei dieser ersten Versuchsreihe die Grundlage selbst, wenn ich mich so ausdrücken soll, der Untersuchung fehlgeschlagen ist, d. h. die Blasentuberkulose, will ich nur einen Augenblick bei dieser und bei dem Grunde des negativen Resultates meiner Experimente verweilen.

Sehen wir zunächst etwas näher zu, welches die Verhältnisse sind, unter denen gewöhnlich auf klinischem Gebiet die Blasentuberkulose sich kundgibt und entfaltet.

Abgesehen von den Fällen, in denen die Blase primär an Tuberkulose erkrankt und weil die Kochschen Bacillen, aus dem Zirkulationsstrom dorthin gelangt, sich in der Dicke ihrer Wandungen lokalisiert haben, geht der Tuberkuloseinfektion der Harnblase bei weitem am häufigsten eine Tuberkulose der Niere oder eine Tuberkulose der Prostata oder der Samenbläschen oder Harnröhre voraus.

Wie gelangt nun von diesen Infektionszentren der Kochsche Bacillus gewöhnlich zur Blase?

Derselbe kann dorthin ebenso auf dem Blutwege als durch anatomische Kontinuität gelangen; doch ist es nicht dieser Mechanismus, der in Bezug auf meine Experimente in Betracht zu ziehen von Interesse ist; andererseits ist er der bei weitem seltenere.

Von einer von einem tuberkulösen Prozeß ergriffenen Niere steigen fortgesetzt mit dem Harn die Kochschen Bacillen längs des Harnleiters herab und gelangen bald frei, bald untermischt mit Ueberresten von in Auflösung übergegangenen Verkäsungsherden in die Blase.

Ebenso kann von der tuberkulös gewordenen Prostata und Samen-

bläschen das infizierende Material allmählich, wie es sich von ihnen freimacht, in die Blase mit den retrograden Flüssigkeitsströmen hinaufsteigen, welche zwischen Harnröhre und Blase am Ende der Miktion oder durch Kapillarität zwischen der Blasenflüssigkeit und der der Harnröhre-Prostata zwischen einer Miktion und der anderen entstehen können.

Mögen die Kochschen Bacillen nun den einen oder den anderen dieser Wege durchlaufen — und der erste ist viel häufiger als der zweite — so ist damit doch nicht gesagt, daß sie, in der Blase angelangt und dort verweilend, immer und notwendigerweise den spezifischen anatomisch-pathologischen Prozeß entfachen müssen.

Damit dies geschehe, ist es notwendig, daß sich zu Lasten der Schleimhaut ein Zustand geringerer Widerstandsfähigkeit zeige, welcher das Fortkommen des Tuberkuloseerregers in dieser und in der Unterschleimhaut leichter macht. In der Tat ist es stets eine nicht übermäßig schwere, noch immer diffuse Cystitis, einhergehend mit Urinstauung, welche dem Zerstörungswerke der Kochschen Bacillen den Weg ebnet.

Fortwährende Ankunft von Tuberkulosekeimen in der Blase, größere Vulnerabilität ihrer Schleimhaut durch Cystitiserscheinungen sind also die Bedingungen, unter denen klinisch die sogenannte von der Niere absteigende oder von der Prostata und den Samenbläschen aufsteigende Tuberkulose eintritt.

Habe ich diese Bedingungen bei meinen Experimenten erreicht?

Es scheint mir, daß kein Zweifel darüber besteht, soweit die erste der Bedingungen, und zwar die Anwesenheit und das Verweilen der Tuberkelbacillen in der Blase in Frage kommt; schwieriger hingegen ist es, den Grad der Cystitis gebührend zu regulieren, wie es äußerst schwer ist, daß es glückt, eine mäßige Urinstauung in der Blase zu erhalten.

Diese Schwierigkeiten zu überwinden, ohne zum, sei es auch zeitweisen, aber doch immer vollständigen Verschluß der Urethra zu greifen, welcher, wenn er auch den Forschern von Rovsing zu Hansen das gute Gelingen ihrer Untersuchungen leicht machte, sie doch zu weit von dem abführte, was gewöhnlich in der Klinik sich ereignet, wird vielleicht dieser Art von Experimenten größere Aussicht auf Erfolg geben.

Hiervon aber werde ich Gelegenheit haben, in einer zweiten Mitteilung zu sprechen, die bald das Licht erblicken wird, und in der auch die Möglichkeit einer aszendenten tuberkulösen Nephritis von neuem untersucht und erörtert werden wird.

Inzwischen bleibt mir als Schlußfolgerung nichts übrig, als das zu bestätigen, was ich gleich anfangs schrieb, d. h. daß die Blasenschleimhaut, auch wenn sie sich im Zustande chronischer Reizung befindet, schwerlich bei nicht diskontinuierlichem Epithel zum Sitz des Fortkommens von Kochschen Bacillen werden kann, sei es, daß dieselben mit dem Harn dorthin gelangen, sei es daß sie mit mechanischen Hilfsmitteln dort niedergelegt und zurückgehalten werden; und daß auf jeden Fall bei vollständigem Urinabfluß, d. h. gegen den Strom, der Aufstieg der Tuberkelbacillen von der Blase zur Niere längs des Harnleiterlumens für unmöglich anzusehen ist.

Literatur.

Baumgarten, P., Wiener med. Wochenschr. 1900.
—, Verhandlungen d. deutsch. Gesellsch. f. Chir. 1901.
—, Arch. f. klin. Chirurg. Bd. LXIII. 1901. Heft 4.
— und Kraemer, Arbeiten a. d. Pathol. Inst. zu Tübingen. Bd. IV. Heft 2. 1903.
—, Berliner klin. Wochenschr. 1904. No. 42.
—, ebendaselbst. 1905. No 44.
—, Arbeiten a. d. Path. Inst. zu Tübingen. Bd. V. 1905. Heft 2.
— und Koppis, ebendaselbst. Bd. VI. 1906.
Bernhard et Salomon, Compt. rend. de la soc. de biol. 1905. p. 94.
Giani, R., Lo Sperimentale. 1905. Fasc. 5.
Götzl A., Prager med. Wochenschr. Jahrg. XXVIII. No. 48.
Groschopf T., Inaug.-Diss. Tübingen, 1903.
Hansen, P. N., Nord. med. Arch. Bd. XXXV. Heft 1.
—, Annal. des malad. des org. génito-urin. 1903. Heft 1.
Kraemer, C., Wiener med. Wochenschr. 1900. No. 45.
Savoré, Bollet. della R. Accad. med. di Pavia. 1905.

Nachdruck verboten.

Acidophile Bakterien im Darmkanal einiger Kaltblüter.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Botanischen Kabinetts an der Kaiserlichen Militär-Medizinischen Akademie zu St. Petersburg.]

Von **N. P. Petrow.**

Während der Jahre 1902—1904 [1]) wurde im Bakteriologischen Laboratorium des Botanischen Kabinetts an der Kaiserlichen Militär-Medizinischen Akademie zu St. Petersburg unter Leitung von S. S. Mereshkowsky eine Reihe von Arbeiten [2]) ausgeführt, welche bezweckten, die Rolle, welche die zum erstenmale von Moro [3]) unter den Namen acidophile Bakterien beschriebenen Bakterien im Darmkanal spielen, festzustellen. Bei Gelegenheit einer dieser Arbeiten, und zwar in der von Dr. Obrastzow [4]) ausgeführten, wurde unter anderen eine bakteriologische Untersuchung des Darminhaltes bei den Repräsentanten der verschiedenen Tierklassen, von den Weichtieren bis zu den Affen einschließlich, vorgenommen, um festzustellen, ob nicht das Vorhandensein von acidophilen Bakterien im Verdauungskanal der einen oder der anderen Tiergruppe mit der Art der Nahrung, welche diese Tiere zu sich nehmen, mit der Lebensweise derselben oder sonst mit irgend welchen Bedingungen im Zusammenhang stehen. Es ergab sich, daß die acidophilen Bakterien im Darmkanal der weitaus größten Mehrzahl der untersuchten Tiere, selbst der nach dem Verwandtschaftsgrade weit voneinander stehenden vorhanden waren. Nur bei *Lucioperca sandra*, bei *Cyprinus auratus*, bei *Silurus glanis* und bei dem *Amblystoma mexicanum* ist der Nachweis von acidophilen Bakterien Obrastzow nicht gelungen. Da aber Obrastzow aus gewissen, von ihm nicht

1) Aus gewissen, vom Autor unabhängigen Gründen mußte die Absendung des Manuskripts bis zu diesem Augenblick unterbleiben.

2) Eine zusammenfassende Uebersicht dieser Arbeiten ist in der Abhandlung von S. S. Mereshkowsky enthalten, die im Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Abt. I. Bd. XXXIX. p. 380 f. erschienen ist.

3) Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LII. Juni.

4) Beitrag zur Frage der Verbreitung der sogenannten acidophilen Bakterien bei den verschiedenen Tierklassen. [St. Petersburger Dissertation 1904. No. 38.]

abhängigen Gründen mit dem Abschluß seiner Arbeit eilen mußte, und es infolgedessen nicht ausgeschlossen ist, daß die von ihm erzielten negativen Resultate zufälliger Natur sind, so hat S. S. Mereshkowsky mir den Vorschlag gemacht, die Untersuchung des Darminhaltes derjenigen Tiere, bei denen Obrastzow acidophile Bakterien nicht gefunden hatte, zu wiederholen.

Die in unserem Laboratorium bis jetzt, namentlich von Dr. Bjeloussow[1]) angestellten Beobachtungen lassen annehmen, daß es wenigstens zwei Arten von acidophilen Bakterien gibt; die eine Art wurde von Bjeloussow mit den Namen Bacillus acidophilus No. 1 [derselbe entspricht dem Bacillus bifidus Tissier[2])], die andere Art mit dem Namen Bacillus acidophilus No. 2 [derselbe entspricht dem Bacillus acidophilus Moro[3])] belegt.

Nach der Natur ihres Wachstums auf Nährmedien und auch nach ihren anderen Eigenschaften sind diese Bacillen einander außerordentlich ähnlich.

Sowohl der eine wie auch der andere Bacillus läßt sich nach Gram färben, sie ertragen relativ leicht das Verweilen in Bouillon mit einem Zusatz von 0,5—1,0 Proz. Essig- oder Milchsäure, während andere Darmbakterien in dieser Bouillon rasch zu Grunde gehen. Beim Wachstum auf Agar rufen die beiden Bacillenarten eine Trübung und unter gewissen Verhältnissen auch ein Braunwerden desselben hervor.

Nach der Form ihrer Kolonieen unterscheiden sich jedoch die beiden von Dr. Bjeloussow isolierten Bakterienarten scharf voneinander. Der Bac. acidophilus No. 1 wächst, wie man dies bei der mikroskopischen Untersuchung sehen kann, in kahnförmigen Kolonieen, die von einem kleinkörnigen Hof umgeben sind; demgegenüber erscheinen die Kolonieen des Bac. acidophilus No. 2 als Konglomerat von sich wurzelförmig verästelnden Fäden ohne jede Spur von Hof[4]). Diese Zeichen sind konstant, und es ist bis jetzt niemanden von denjenigen, die im Laboratorium gearbeitet haben, gelungen, den Uebergang der Kolonieen des einen Typus in solche des anderen Typus zu beobachten[5]).

Auf Plattenkulturen gelingt es, wenn dieselben unmittelbar mit dem Darminhalt ausgegossen sind, nicht, die Entwickelung von Kolonieen von acidophilen Bakterien zu erhalten; die Schalen werden von Kolonieen anderer Darmbakterien, die sich nach Gram nicht färben, überwuchert. Um die acidophilen Bakterien zu isolieren muß man, wie es augenscheinlich zum ersten Male durch Heyman[6]) geschehen ist, die zu untersuchenden Proben des Darminhaltes auf 1—3 Tage in Bouillon mit einem Zusatz von 0,5 bis 1,0 Proz. Essig- oder Milchsäure versenken.

Von den im Vorstehenden geschilderten Momenten ausgehend, bediente ich mich bei meinen Untersuchungen folgender Methode: Das

---

1) Zur Biologie und Methodik der Isolierung der sogenannten acidophilen Bakterien. [St. Petersburger Dissertation. 1903. No. 76.]

2) Tissier, Recherches sur la flore intestinale normale et pathologique du nourisson. [Thèse de Paris 1900.]

3) Op. cit.

4) Mikrophotogramme dieser Kolonieen sind bei Obrastzow (op. cit.) oder bei S. S. Mereshkowsky (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. I. Bd. XL. 1905. p. 125) einzusehen.

5) Cf. Mereshkowsky op. cit.

6) Finkelstein, Ueber säureliebende Bacillen im Säuglingsstuhl. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 38.)

zu untersuchende Tier wurde unter den in Betracht kommenden Vorsichtsmaßregeln seziert und der Magendarmkanal hervorgezogen, worauf dieser letztere in 2 Teile, in einen vorderen und einen hinteren Abschnitt, durchschnitten und in je ein Reagenzgläschen mit Bouillon, zu der 0,5 Proz. Essigsäure zugesetzt war, versenkt wurde; mit dem Inhalt des einen und des anderen Abschnittes wurden vor Versenkung derselben in die Bouillon Strichpräparate zur Färbung nach Gram angelegt.

Die Bouillon mit den Abschnitten des Verdauungstraktus wurde für 2 Tage in den Brutschrank bei 37,5° C und bei Luftzutritt gebracht, worauf mit der Bouillon auf schwachsaurem Fleischpeptonagar mit 2 Proz. Traubenzucker Platten ausgegossen wurden [1]).

Die Ausgußplatten wurden im Brutschrank bei 37,5° C in anaërobe Verhältnisse gebracht und am 4.—5. Tage untersucht.

Um die acidophilen Bakterien auf den in Schalen ausgegossenen Kulturen zu diagnostizieren, bediente ich mich folgender Merkmale:

Die Bakterien wurden als acidophile betrachtet,

1) wenn sie trotz des vorangehenden Verweilens des Darminhalts in der in oben geschilderter Weise angesäuerten Bouillon gewachsen waren;

2) wenn ihre Kolonieen die eine der oben beschriebenen Formen hatten;

3) wenn man auf den Strichpräparaten aus den Kolonieen oder aus deren Abimpfungen nach Gram gefärbte Stäbchen erhielt;

4) wenn in Abimpfungen auf mit 2-proz. Traubenzucker versetztem Agar Trübung desselben beobachtet wurden.

Alles in allem wurden untersucht: 2 Exemplare von *Cyprinus auratus*, 2 von *Silurus glanis*, 1 von *Amblystoma mexicanum* und 6 Exemplare von *Lucioperca sandra*.

Beobachtung No. 1.

Am 2. November 1904 wurde ein Exemplar von *Cyprinus auratus* aus dem Aquarium, unmittelbar nachdem es getötet worden war, seziert. Im Magendarmkanal, hauptsächlich im hinteren Abschnitt desselben, befand sich eine geringe Quantität Inhalt in Form eines flüssigen, grünlichen Breies.

Die mikroskopische Untersuchung der mit dem Inhalt des Magendarmkanals angelegten und nach Gram gefärbten Strichpräparate ergab sehr wenige Mikroorganismen (es waren solche nicht einmal in jedem Gesichtsfelde zu sehen); gefärbte Bakterien fand man überhaupt nicht.

Die mit demselben Stoff ausgegossenen Plattenkulturen ergaben bei zweimaliger Wiederholung der Prozedur keine acidophilen Bakterien.

Beobachtung No. 2.

Am 4. Dezember 1904 wurde in Anbetracht des negativen Resultats der vorangehenden Beobachtung ein zweites Exemplar von *Cyprinus auratus* untersucht, welches mittelst Durchschneidung des Rückenmarks getötet wurde. Im Magendarmkanal fand man ziemlich viel Inhalt in Form eines Breies von gelblicher Farbe. In den mit dem Darminhalt angelegten und nach Gram gefärbten Strichpräparaten fand man inmitten von ungefärbten Stäbchen ziemlich viel gefärbte Stäbchen.

---

1) Zur Herstellung von Nährmedien wurde, dem im Laboratorium herrschenden Usus zufolge, statt Fleisch Extractum carnis Cibils in der Quantität von 1 Proz. verwendet.

In den auf Schalen ausgegossenen Kulturen entwickelten sich zahlreiche Kolonieen von Bac. acidophilus No. 2 und Bac. acidophilus No. 1; letztere in relativ geringerer Quantität.

Mit den Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1 wurde mit 2 Proz. Traubenzucker versetzter Agar geimpft, worauf am 6. Tage bei 37,5° C hochgradige Trübung des Agars entstand; dagegen trat in den Abimpfungen der Kolonieen des Bac. acidophilus No. 2 kaum bemerkbare Entwickelung ein.

Beobachtung No. 3.

4. Dezember 1904. Es wurde ein kleines Exemplar von *Silurus glanis* seziert, das mittelst Durchschneidung des Rückenmarks getötet wurde. Im Magendarmkanal fand man ziemlich viel Inhalt in Form eines dicken Breies von schwarzer Farbe.

Die mikroskopische Untersuchung der mit dem Magendarminhalt angelegten und nach Gram gefärbten Strichpräparate ergab außerordentlich wenig Mikroorganismen, wobei die Zahl der gefärbten größer war, als diejenige der nichtgefärbten.

In den zweimal auf Schalen ausgegossenen Kulturen entwickelte sich eine geringe Anzahl von Kolonieen des Bac. acidophilus No. 2; Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1 fand man nicht.

Es wurde mit den Kolonieen Agar, welcher mit 2 Proz. Traubenzucker versetzt war, geimpft und letztere in den auf 37,5° eingestellten Brutschrank gebracht, wobei am 7. Tage dem Stich entlang geringes Wachstum und leichtes Braunwerden des Agars wahrgenommen werden konnte.

Beobachtung No. 4.

9. Januar 1905. Da im Darminhalt des *Silurus glanis* in der Beobachtung No. 3 der Bac. acidophilus No. 1 nicht nachgewiesen werden konnte, wurde wiederum ein kleines Exemplar von *Silurus glanis* mittelst Durchschneidung des Rückenmarks getötet und seziert. Im Magendarmkanal, namentlich im hinteren Abschnitt desselben fand man ziemlich viel Inhalt in Form eines schwarzen, dichten Breies.

Die mikroskopische Untersuchung der mit dem Inhalt des vorderen und hinteren Darmabschnittes angelegten und nach Gram gefärbten Strichpräparate ergab eine sehr geringe Anzahl von Mikroorganismen, unter denen sich sowohl gefärbte, wie nichtgefärbte befanden.

In den Ausgußkulturen, die am 3. Tage mit der Bouillon, in welche der vordere und hintere Abschnitt des Magendarmkanals versenkt war, ausgegossen wurden, entwickelten sich eine ziemlich große Anzahl von Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1 und eine unbedeutende Anzahl von Kolonieen des Bac. acidophilus No. 2.

In den Abimpfungen der Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1 und des Bac. acidophilus No. 2 stellte sich am 7. Tage Trübung des Agars ein.

Beobachtung No. 5.

9. Januar 1905. Ein Exemplar von *Amblystoma mexicanum* wurde mittelst Durchschneidung des Rückenmarks getötet und sofort seziert. Im Magendarmkanal fand man eine ziemlich große Quantität Inhalt in Form eines schwarzen, dichten Breies.

Die mikroskopische Untersuchung der mit dem Inhalt des vorderen Darmabschnittes angelegten und nach Gram gefärbten Strichpräparate ergab keine Mikroorganismen; dagegen stellte es sich heraus, daß der

Inhalt des hinteren Darmabschnittes zahlreiche gutgefärbte und nichtgefärbte Bacillen enthielt, wobei die Zahl der gefärbten und diejenige der nichtgefärbten ungefähr gleich war.

In den Ausgußkulturen, welche mit der mit dem vorderen und hinteren Darmabschnitt infizierten Bouillon ausgegossen waren, fanden sich Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1 und des Bac. acidophilus No. 2 in ziemlich großer Anzahl.

In den Abimpfungen der Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1 trat am 5. Tage des Verweilens im Brutschrank bei 37,5° C hochgradige Trübung des Agars auf; in den Abimpfungen der Kolonieen des Bac. acidophilus No. 2 konnte man ceteris paribus ein kaum bemerkbares Wachstum dem Stich entlang wahrnehmen.

Beobachtung No. 6.

10. Dezember 1904. Ein Exemplar von *Lucioperca sandra* wurde getötet und sofort seziert. Im Magendarmkanal fand man eine sehr geringe Quantität schleimigen Inhaltes, der im vorderen Darmabschnitt von gelblicher, im hinteren Darmabschnitt von weißlicher Farbe war. In den mit dem Inhalt des einen und des anderen Darmabschnittes angelegten Strichpräparaten ergab die nach Färbung derselben nach Gram vorgenommene mikroskopische Untersuchung keine Mikroorganismen.

In den Ausgußkulturen, welche mit der mit dem einen und dem anderen Darmabschnitt infizierten Bouillon ausgegossen waren, ergab die mikroskopische Untersuchung bei zweimaliger Wiederholung der Prozedur keine Kolonieen von acidophilen Bakterien.

Beobachtung No. 7.

24. Dezember 1904. In Anbetracht des negativen Resultats der Beobachtung No. 6 wurde ein zweites Exemplar von *Lucioperca sandra* getötet und sofort seziert. Im Magendarmkanal fand man eine sehr geringe Quantität schleimigen Inhaltes von gelblicher Farbe.

In den mit dem Inhalt des vorderen und hinteren Darmabschnittes angelegten Strichpräparaten ergab die mikroskopische Untersuchung nach Färbung derselben nach Gram keine Mikroorganismen.

Die Ausgußkulturen haben sich als steril erwiesen.

Beobachtung No. 8.

27. Januar 1905. In Anbetracht der negativen Resultate, die sich in den Beobachtungen No. 6 und No. 7 ergeben haben, wurde ein im Laden im gefrorenen Zustande gekauftes Exemplar von *Lucioperca sandra*, nachdem es aufgetaut war, seziert. Im Magendarmkanal fand man eine ziemlich große Quantität schleimigen Inhaltes von milchartigem Aussehen.

In den mit dem Inhalt des vorderen und hinteren Darmabschnittes angelegten Strichpräparaten ergab die mikroskopische Untersuchung nach Färbung derselben nach Gram keine Mikroorganismen.

In den Ausgußkulturen, welche mit der mit dem Inhalt des vorderen Darmabschnittes infizierten Bouillon ausgegossen waren, fanden sich keine acidophilen Bakterien. Demgegenüber fand man in den Ausgußkulturen, die mit der mit dem Inhalt des hinteren Darmabschnittes infizierten Bouillon ausgegossen waren, eine geringe Quantität Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1, während Kolonieen des Bac. acidophilus No. 2 nicht gefunden wurden.

In den Abimpfungen der Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1

auf Agar mit Zusatz von 2 Proz. Traubenzucker trat am 6. Wachstumstage bei der Temperatur von 37,5° C deutliche Trübung des Agars auf.

Beobachtung No. 9.

14. März 1905. Da in der Beobachtung No. 8 der Bac. acidophilus No. 2 nicht vorhanden war, wurde ein weiteres im Laden im gefrorenen Zustande gekauftes Exemplar von *Lucioperca sandra* seziert. Im Magendarmkanal fand man schleimigen Inhalt in geringer Quantität.

Die mikroskopische Untersuchung der mit dem Darminhalt angelegten und nach Gram gefärbten Strichpräparate ergab keine Mikroorganismen.

Die Ausgußkulturen haben sich als steril erwiesen.

Beobachtung No. 10.

15. März 1905. Es wurde wiederum ein im Laden im gefrorenen Zustande gekauftes Exemplar von *Lucioperca sandra* seziert. Im Magendarmkanal, und zwar im vorderen Abschnitt desselben, fand man eine ziemlich große Quantität flüssigen, schleimigen Inhaltes von leicht grauer Farbe, während der Inhalt des hinteren Darmabschnittes einen dichten, schwarzen Brei darstellte.

In den Strichpräparaten, die mit dem Inhalt des einen und des anderen Darmabschnittes angelegt und dann nach Gram gefärbt waren, ergab die mikroskopische Untersuchung zahlreiche gefärbte, sowie nichtgefärbte Mikroorganismen.

In den Ausgußkulturen, die mit der mit dem Inhalte des vorderen Darmabschnittes infizierten Bouillon ausgegossen waren, fand man zahlreiche Kolonieen von Bac. acidophilus No. 1; Kolonieen von Bac. acidophilus No. 2 waren nicht vorhanden. Die Ausgußkulturen, welche mit der mit dem Inhalt des hinteren Darmabschnittes infizierten Bouillon ausgegossen waren, blieben steril.

In den Abimpfungen der Kolonieen des Bac. acidophilus No. 1 trat am 7. Tage Trübung des Agars ein.

Beobachtung No. 11.

24. März 1905. Es wurde wiederum ein im gefrorenen Zustande gekauftes Exemplar von *Lucioperca sandra* seziert. Im Mageninhalt fand man schleimigen Inhalt in geringer Quantität.

In den Strichpräparaten, die mit dem Mageninhalt angelegt und dann nach Gram gefärbt waren, ergab die mikroskopische Untersuchung keine Mikroorganismen.

Die Ausgußkulturen, welche mit der mit dem Darminhalt infizierten Bouillon ausgegossen waren, blieben steril.

* * *

Die auf diese Weise erzielten Resultate sind in folgender Tabelle (p. 355) zusammengestellt.

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß acidophile Bakterien auch bei denjenigen Tieren angetroffen werden, bei denen die einschlägigen Untersuchungen von Obrastzow ein negatives Resultat ergeben haben; nur gelingt es aus irgend einem Grunde nicht immer, diese Bakterien zu isolieren. Es ist leicht möglich, daß diese Erscheinung, wie es auch Obrastzow zum Ausdruck gebracht hat, dadurch bedingt ist, daß die Tiere zur Untersuchung gerade im Zustande des Hungerns genommen

wurden, wo der Darmkanal überhaupt in bedeutendem Maße sich der in demselben enthaltenen Mikroorganismen entledigt.

Tabelle.
Resultate der beschriebenen Faecesuntersuchung.

No. der Beobachtungen	Welchem Tiere die Faeces entnommen waren	Bei Untersuchung der Strichpräparate aus den Faeces waren an nach Gram gefärbten Stäbchen oder ungefärbten vorhanden: viel ++; wenig +; keine 0		In den Plattenkulturen aus den Faeces waren viel ++; wenig +; keine 0	
		gefärbte Stäbchen	ungefärbte Stäbchen	Kolonieen des Typus I	Kolonieen des Typus II
1	Cyprinus auratus	0	+	0	0
2	„ „	++	++	+	++
3	Silurus glanis	+	+	0	+
4	„ „	+	+	++	+
5	Amblystoma mexicanum	++	++	++	++
6	Lucioperca sandra	0	0	0	0
7	„ „	0	0	0	0
8	„ „	0	0	+	0
9	„ „	0	0	0	0
10	„ „	++	++	++	0
11	„ „	0	0	0	0

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, dem hochverehrten Herrn S. S. Mereshkowsky für das aufgegebene Thema und für die freundliche Anleitung an dieser Stelle meinen ergebensten Dank zu sagen.

Zur Biologie des Erregers der Hühnerpest (Kyanolophia gallinarum).

[Aus dem hygienischen Institute der k. k. Universität in Innsbruck.]

Von Prof. A. Lode.

Nach Gotschlich[1]) hat Leoni 1889 zuerst auf die Tatsache aufmerksam gemacht, das Vaccinelymphe durch Glycerinzusatz bakterienfrei (arm) gemacht wird. Dieses Ergebnis wurde hauptsächlich durch die bestätigenden Untersuchungen Pauls[2]) in die Impfpraxis eingeführt, nachdem durch zahlreiche Nachuntersuchungen festgestellt worden war, daß eine etwa 2 Monate lange Lagerung die Lymphe in der Regel von den pathogenen Keimen (hauptsächlich kommt der Staphylococcus pyogenes aureus in Betracht) befreit, ohne daß die Lymphe selbst in ihrer Wirksamkeit in erheblichem Maße leidet.

v. Wunschheim[3]) hat in meinem Institute gelegentlich seiner Studien über die Einwirkung des Glycerins auf Antiseptika auch die

1) Handb. Kolle-Wassermann. Bd. IV. p. 146.
2) Ueber rationelle Gewinnung eines reinen (keimarmen) animalischen Impfstoffes. (Oesterr. Sanitätswesen. 1896.)
3) Arch. f. Hygiene. Bd. XXXIX. p. 105.

bakterizide Fähigkeit des Glycerins in verschiedenen Mischungen mit Wasser geprüft und gefunden, daß nicht nur die hinfälligen Mikrobien, wie Cholera, in 1—2 Tagen selbst in 30-proz. Glycerin, sondern auch der Staphylococcus in kurzer Zeit zu Grunde geht. Letzterer war nach 12 Tagen in reinem, nach 6 Tagen in 70- und 50-proz. Glycerin nicht mehr züchtbar. Widerstandsfähiger erwies sich allerdings das Bacterium coli commune, das in reinem Glycerin zwar nur 6 Tage, in 70-proz. Glycerin 14 Tage und in 50-proz. Glycerin aber länger als 22 Tage am Leben blieb.

Der Unterschied der Widerstandskraft des Erregers der Pocken einerseits und der Bakteriaceen andererseits scheint also höchst auffallend, und es war — mit Rücksicht darauf, daß man geneigt ist, den Variolaprozeß auf die Tätigkeit von tierischen Parasiten zurückzuführen, und es ferner in der Literatur als nicht unwahrscheinlich hingestellt worden ist[1]) [Kleine[2]), Landsteiner[3])], daß auch die rätselhaften Mikrobien der Hühnerpest (Kyanolophia gallinarum) den Protozoen zuzurechnen seien — interessant, auch bei diesem Virus das Verhalten infektiösen Materiales gegen Glycerin festzustellen.

Das Pockenvirus steht übrigens nicht vereinzelt da hinsichtlich seiner trefflichen Haltbarkeit in Glycerin. Auch beim Lyssavirus ist die Konservierbarkeit in Glycerin durch Monate festgestellt, und nach den für Deutschland geltenden Anordnungen ist entweder der Kopf oder in Glycerin eingelegtes Mark aller Tiere, welche Menschen gebissen haben, zur Untersuchung auf Lyssa an die kompetenten Anstalten einzusenden[4]).

Auch das Virus der Syphilis, welches sich sonst außerhalb des Körpers durch große Hinfälligkeit auszeichnet, wird durch Glycerin nicht geschädigt. Freilich scheint die in Metschnikoffs Versuchen[5]) geprüfte Einwirkungszeit sehr kurz gewesen zu sein. Bei der Lues scheint der Erreger die *Spirochaete pallida*, also wieder ein Protozoon, zu sein.

Hier sei auch einer alten Angabe von L. Pfeifer[6]) gedacht, nach welcher Glycerin, rein oder verdünnt, auf ältere Individuen eines von ihm studierten Sporozoon ohne Einfluß sein sollte.

Bei der Lyssa ist übrigens noch eine weitere Analogie mit dem Erreger der Hühnerpest bemerkenswert, d. i. die Filtrierbarkeit wenigstens durch Berkefeld-Filter V (allerdings nicht durch Chamberland-Filter F und Berkefeld-Filter W und M (vergl. Remlinger, Annales de l'Institut Pasteur. 1903. p. 432). Schüder[7]), welcher die Filtrierbarkeit bestätigte, zog sogar den Schluß, daß die von Negri im Gehirn, besonders dem Ammonshorne, an Lyssa Verstorbener nachgewiesenen Körperchen, welche ihr Entdecker für Protozoen und für die Erreger der Lyssa hält, nicht eine ätiologische Bedeutung haben können, weil sichtbare Elemente nicht so klein sein können, daß sie durch die Filterporen bakteriendichter Filter gehen. Im Lichte neuerer Forschung ist allerdings dieser Schluß nicht mehr zutreffend. Schaudinn[8]) be-

1) Lode und Gruber, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX.
2) Kleine, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX.
3) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII.
4) Handb. Kolle-Wassermann. Bd. IV. p. 1273.
5) Annales de l'Inst. Pasteur. T. XVIII. 1904. p. 664.
6) Monatsh. f. prakt. Dermatol. 1887. No. 10. (Nicht im Originale eingesehen.)
7) Schüder, Deutsche med. Wochenschr. 1903. p. 700.
8) Schaudinn, Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. (Arb. a. d. kais. Ges.-Amt. Bd. XX. p. 432.)

merkt bei der Schilderung des Zeugungskreises von *Spirochaete Ziemanni* folgendes:

„Infolge lebhafter Vermehrung werden die indifferenten Spirochäten im Darme der Mücke ganz außerordentlich klein, ja ich habe Formen gefunden, die so unmeßbar dünn wurden, daß sie nur noch an der Bewegung oder in agglutinierten Anhäufungen erkannt werden, aber sich als Einzelindividuen optisch nicht mehr auflösen lassen. Nach meinen Berechnungen würden derartige Formen wohl durch ein Chamberland-Filter hindurchgehen. Ich kam auf Grund dieser Studien zu der Vorstellung, daß es wohl parasitische Protozoen geben kann, die in einem Zustande optisch nicht mehr nachweisbar sind, während sie in anderen Entwickelungsstadien große, leicht erkennbare Gebilde darstellen. Ich halte es daher jetzt nicht mehr für beweisend gegen die Protozoennatur eines Krankheitserregers, wenn er durch unsere feinsten Filterapparate hindurchgeht."

Es ist auch für die großen Trypanosomen der Ratten (*Trypanosomum Lewisi*) durch McNeal und Novy festgestellt, daß das filtrierte Kondenswasser der Kulturen noch infektiös auf die Ratte wirken kann, demnach neben den sichtbaren noch unsichtbare Individuen vorhanden sein müßten [1]).

In neuerer Zeit ist übrigens auch die anfänglich geleugnete Filtrierbarkeit der Vaccinelymphe erhoben worden, so durch Borrel, der sie bei langsamer und ausdauernder Filtration durch Chamberland-Kerzen brachte, ferner durch Casagrandi [2]) und unlängst [3]) durch Negri, der mit Berkefeld-Filtern und einem Drucke von 2—3 Atmosphären arbeitete.

Für das Virus der Hühnerpest ist die Erfahrung bekannt, daß in Glycerin eingelegte Organstücke verendeter Hühner sich lange Zeit infektiös erweisen. Es stellt diese Aufbewahrung eine bequeme und sparsame Methode dar, stets im Laboratorium lebensfähiges Impfmaterial zu besitzen, wenn man nur etwa alle 3—4 Monate den Impfstoff ein Huhn passieren läßt. So haben wir, ohne daß ich behaupten will, die Grenze der Lebensfähigkeit damit zu bestimmen, in einem Falle das Material vom 2. Juni bis 1. Okt., also durch 4 Monate, in einem anderen vom 20. Dez. bis 31. Mai, oder $5^1/_3$ Monate, erhalten können, ohne daß die Krankheitsdauer verlängert worden wäre.

Unsere Versuche sollten nun die Frage beantworten, wie sich Hühnerpestaufschwemmungen nach dem Versetzen mit Glycerin hinsichtlich ihrer Infektiösität verhalten.

Zu diesem Behufe wurde mit virulentem Material ein Huhn infiziert, das nach 3 Tagen einging. Leber, Herzblutcoagula, Milz wurden in einer sterilen Reibschale mit etwa 200 ccm sterilen Brunnenwassers verrieben, in einem Becherglase sedimentiert und hierauf die stark blutige und trübe Flüssigkeit durch Filtrierpapier einigermaßen geklärt. Dieses Papierfiltrat, welches keine gröberen Partikelchen mehr enthielt,

1) Vergl. Nocht und Meyer in Kolle-Wassermanns Handb. Nachtrag. p. 18; ferner die Bemerkungen von Kolle und Hetsch, Exp. Bakteriol. 1906. p. 546 über die Erreger des Gelbfiebers.

2) Prowazek, Untersuchungen über den Erreger der Vaccine. (Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. 1906. p. 533.)

3) Negri, Ueber Filtration des Vaccinevirus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. p. 748.)

wurde mit Glycerin versetzt, und zwar einmal 20 ccm Filtrat mit 10 ccm reinem Glycerin und andererseits 20 ccm Filtrat mit 20 ccm Glycerin. Vor dem Glycerinzusatze wurde dem Filtrat etwas Aufschwemmung einer Reinkultur eines widerstandsfähigen Stammes des Staphylococcus pyogenes aureus zugesetzt. Es ergab sich:

I. 50-proz. Glycerinaufschwemmung (20 ccm Filtrat + 20 ccm Glycerin): letzte gelungene Hühnerinfektion nach 16 Tagen, nicht mehr infektiös nach 23 Tagen. Der Staphylococcus wächst in Bouillonkulturen noch nach 25, nicht mehr nach 35 Tagen.

II. 66-proz. Glycerinaufschwemmung (10 ccm Filtrat + 20 ccm Glycerin): letzte gelungene Hühnerinfektion, wenn auch mit protrahierter Krankheitsdauer, nach 16 Tagen, nicht mehr infektiös nach 23 Tagen. Der Staphylococcus wuchs nach 13 Tagen in Bouillon verzögert, auf schrägem Agar entstanden aus einer Oese Mischung nur mehr 2 Kolonieen, nach 16 Tagen war der Aureus nicht mehr züchtbar.

Die Widerstandsfähigkeit des Virus der Hühnerpest war also in der 50-proz. Glycerinaufschwemmung dem Staphylococcus etwas nachstehend, in der 66-proz. Glycerinaufschwemmung sogar etwas überlegen. Es besitzt demnach das Virus der Hühnerpest eine im Vergleich zu den hinfälligeren Bakteriaceen nicht unbeträchtliche Widerstandskraft gegenüber Glycerin, die allerdings jener der Vaccine stark nachsteht. Der verwendete Stamm des Staphylococcus pyogenes aureus übertraf übrigens an Resistenz den von Wunschheim verwendeten.

Es war nunmehr auch von Interesse, andere Reagentien auf Hühnerpestaufschwemmungen einwirken zu lassen, von denen es bekannt ist, daß sie den Bakteriengehalt der Vaccinelymphe herabsetzen.

Chloroform. Nach Green wird die Virulenz der Vaccine nicht merklich beeinflußt, wenn Chloroformdämpfe enthaltende Luft durch verdünnte Lymphe geleitet wird. Wir haben durch 20 ccm des oben beschriebenen Papierfiltrates die Hühnerpest durch 1 Stunde 15 Min. Chloroformdämpfe geleitet, in dem sowohl Filtrat als auch Chloroform in Liebigsche Kugelröhren verteilt und der Saugstrom einer Wasserstrahlpumpe zuerst durch das Chloroform und dann durch das Filtrat geleitet wurde. Carini[1]) hat auch auf Grund praktischer Versuche festgestellt, daß nach einer Durchleitungszeit von einigen Stunden die Vaccinelymphe von den vegetativen Keimen befreit wird, ohne selbst an Wirksamkeit, wenigstens bei rascher Verwendung, einzubüßen.

Im Gegensatze hierzu wurde das Virus der Hühnerpest selbst nach der kurzen Einleitungszeit von $1^1/_4$ Stunden seiner Infektionsfähigkeit beraubt. Wir bewahrten Filtrate (50 ccm Filtrat + 1 ccm Chloroform) bei Brutofentemperatur und bei Zimmertemperatur durch 12 und 18 Stunden auf. In allen Versuchen war sowohl der Staphylococcus, wie auch der Hühnerpestmikrobe vernichtet worden.

Toluol zerstört nach Carini nicht die Wirkung der Vaccine, obwohl auch Bakterienbefreiung eintritt. Wir versetzten das Filtrat 50 ccm mit 5 ccm Toluol in einer luftdicht schließenden Flasche. Nach 18 Stunden wurde die über dem Toluol stehende Flüssigkeit abpipettiert und ein Huhn infiziert. Das Huhn blieb gesund, und auch der Versuch, durch die Kultur Staphylokokken nachzuweisen, fiel negativ aus.

Aus den Versuchen geht es somit nicht an, für das Virus der Hühnerpest, wie dies für die Vaccine zweifellos besteht, eine widerstands-

---

1) Ueber Methoden schneller Bakterienbefreiung der frisch abgenommenen Kuhpockenlymphe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. p. 47.)

fähigere, Bakterien übertreffende Resistenz anzunehmen. Damit in Uebereinstimmung sind auch ältere Beobachtungen über die Einwirkung der Hitze und antiseptischer Agentien auf das Virus.

Freilich lassen sich die Versuche auch nach der Richtung nicht verwerten, daß Protozoen ausschließbar wären. Es spricht im allgemeinen die Wahrscheinlichkeit sehr für die letztere Annahme, wobei auch neuere Versuche von Klein, Landsteiner, von letzteren besonders die unterschiedliche Syntoninwirkung, in die Wagschale fallen.

Interessant ist es ferner, daß die Kulturmethoden den „unsichtbaren“, aber filtrierbaren Mikrobien gegenüber fast völlig versagen. Schon vor Jahren habe ich, von der Erwägung ausgehend, daß, nachdem damals schon eine nicht unbedeutende Zahl filtrierbarer Infektionsmengen bekannt war, es auch bei fleißigem Suchen leicht gelingen müsse, saprophytische kleinste Erreger aufzufinden, zahlreiche Filtrationen vorgenommen. Es wurden zu diesem Behufe verunreinigte Flüssigkeiten der verschiedensten Provenienz durch Berkefeld-Filter geschickt und von den Filtraten nach Hunderten zählende Bouillonaussaaten gemacht. Stets war jedoch der Erfolg ein negativer, und ich würde mich gern auf Grund dieser Versuche dahin geäußert haben, daß die kleinsten Erreger kaum Bakterien sein dürften, da wir sonst vermutlich wenigstens saprophytische und züchtbare analoge Formen aufgefunden hätten.

Esmarch[1]) war jedoch glücklicher, indem es bei ganz ähnlichen Versuchen ihm gelang, ein *Spirillum* zu isolieren, welches erst nach 10 Tagen leicht trübend wuchs, von der Größe der Influenzabakterien war und eine lebhafte Eigenbewegung einer endständigeu Geißel verdankte. Pathogen war dieses *Spirillum parvum* übrigens nicht.

Das langsame Wachstum, die Spirillenform haben unleugbar einige Anklänge an gewisse Entwickelungsstadien der Protozoen. Gehört also — im Lichte der neuesten Ergebnisse — *Spirillum parvum* wirklich zu den Bakterien?

Das wenige Tatsächliche, was uns unsere Versuche lehrten, ist nur eine relativ nicht unbedeutende Widerstandsfähigkeit dem Glycerin gegenüber, welche allerdings bei den daraufhin geprüften filtrierbaren Erregern (Lyssa, Vaccine, Syphilis?), deren Protozoennatur wahrscheinlich ist, auch beobachtet worden ist.

Daß die Lebensdauer des Virus in Glycerin nicht 1 Monat übertrifft, schien mir anfangs mit den Beobachtungen an Organen nicht zu stimmen. Doch haben Sclavo und Deeleman[2]) nachgewiesen, daß in Glycerin aufbewahrte Milzen von Tieren, welche an Pneumokokken zu Grunde gegangen waren, noch nach 67 Tagen, die hinfälligen Hühnercholeravibrionen gar nach 74 Tagen lebensfähig und virulent waren. Die Aufbewahrung der Organe in Glycerin bewahrt offenbar die Mikrobien vor der zerstörenden Einwirkung der Fäulnis, vielleicht teilweise vor der Organautolyse. Das Glycerin selbst kommt aber nur nach längerer Zeit, und da vielleicht verdünnt durch die Säfte der Organe, an die Mikrobien heran.

1) Ueber kleinste Bakterien und das Durchwachsen von Filtern. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII. 1902.)

2) Zit. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. p. 507.

Ueber die Negrischen Körperchen im Virus fixe.

(Aus dem bakteriologischen Institute in Kiew. Abteilung von Prof. W. Wysokowicz).

Von Dr. **B. Fursenko**, Tierarzt.

Schiffmann[1]) und Bongiovanni[2]), welche sich in letzter Zeit mit der Frage über die Negrischen Körperchen beschäftigt haben, geben an, daß ihre Versuche, diese Körperchen im Virus fixe zu finden, erfolglos geblieben sind. Die genannten Autoren kamen zu dem Schluß, daß im Virus fixe die Negrischen Körperchen überhaupt nicht vorkommen. Diese Tatsache ist von großer Bedeutung für die Aetiologie der Tollwut, und die Nachprüfung der Untersuchungen von Schiffmann und Bongiovanni zeigte sich für uns von großem Interesse. Wir stellten uns die Frage, ob die negativen Resultate der genannten Autoren nicht durch ihre Methode der Fixierung und Färbung hervorgerufen worden seien. Deswegen haben wir bei unseren Untersuchungen verschiedene Methoden angewandt, und wir kamen zu dem Schluß, daß die Fixierung nach Henke-Keller und Färbung nach Mann die besten Resultate zu geben im stande ist. Bei zahlreichen, zu diagnostischen Zwecken unternommenen Untersuchungen haben wir sie auch zum Nachweis der Negrischen Körperchen im Virus fixe angewandt. Entgegen den Angaben von Schiffmann und Bongiovanni konnten wir bei allen unseren Untersuchungen des Nervensystems der einer Infektion mit fixem Virus erlegenen Tiere (10 Fälle) die Anwesenheit von Negrischen Körperchen konstatieren. Die erhaltenen Resultate sind aus dem Folgenden ersichtlich:

Kaninchen No. 1.

Subdurale Infektion mit einer Emulsion vom Großhirn eines an Virus fixe untergegangenen Kaninchens. Die ersten Krankheitssymptome am 6. Tag nach der Infektion, Tod nach 9 Tagen.	Ammonshorn (3 Präparate untersucht)	Negrische Körperchen positiv
	Kleinhirn (3 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (5 Pr.)	pos.
	Rückenmark (5 Pr.)	neg.

Alle Negrische Körperchen klein (0,5—1 μ), gleichmäßig gefärbt, sitzen im Protoplasma der Nervenzellen.

Kaninchen No. 2.

Dieselbe Art der Infektion. Die ersten Krankheitsymptome u. Tod wie bei No. 1.	Ammonshorn (3 Präparate untersucht)	Negrische Körperchen negativ
	Kleinhirn (2 Präp.)	neg.
	Medulla oblongata (5 Pr.)	—
	Rückenmark (5 Pr.)	pos.

Die im Rückenmark bemerkten Negrischen Körperchen sind ziemlich groß (5 μ), länglich und sitzen im Protoplasma der Nervenzellen der grauen Substanz des Rückenmarkes.

Kaninchen No. 3.

Eine Emulsion vom Rückenmark des Kaninchens No. 1 subdural eingeführt. Die ersten Krankheitssymptome u. Tod wie bei No. 1.	Ammonshorn (2 Präparate untersucht)	Negrische Körperchen positiv
	Kleinhirn (2 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (5 Pr.)	pos.
	Rückenmark (10 Pr.)	pos.

Die Negrischen Körperchen klein, im Rückenmark 2 große Körperchen mit einem ungefärbten zentralen Kern.

---

1) Schiffmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII.
2) Bongiovanni, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XIII.

Kaninchen No. 4

Dieselbe Art der Infektion wie bei No. 3.	Ammonshorn (6 Präparate untersucht)	Negrische Körperchen positiv
	Kleinhirn (3 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (10 Pr.)	pos.
	Rückenmark (7 Pr.)	pos.

Die Körperchen von derselben Größe wie bei No. 1.

Kaninchen No. 5.

Subdurale Infektion mit Virus fixe.	Ammonshorn (2 Präparate untersucht)	Negrische Körperchen negativ
	Kleinhirn (1 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (3 Pr.)	neg.
	Rückenmark (6 Pr.)	pos.

Die Negrischen Körperchen von 3–6 μ. Die einen sind gleichmäßig gefärbt, die anderen enthalten einen ungefärbten Kern.

Kaninchen No. 6.

Subdurale Infektion mit Virus fixe.	Ammonshorn (7 Präparate untersucht)	Negrische Körperchen positiv
	Kleinhirn (2 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (1 Pr.)	neg.
	Rückenmark (4 Pr.)	neg.

Kaninchen No. 7.

Subdurale Infektion mit Virus fixe.	Ammonshorn (3 Präparate untersucht)	Negrische Körperchen negativ
	Kleinhirn (3 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (5 Pr.)	pos.
	Rückenmark (2 Pr.)	neg.

Die Negrischen Körperchen sind klein, von 0,5—1 μ.

Kaninchen No. 8.

Subdurale Infektion mit Virus fixe.	Ammonshorn (1 Präparat untersucht)	Negrische Körperchen negativ
	Kleinhirn (1 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (2 Pr.)	neg.
	Rückenmark (12 Pr.)	pos.

Kaninchen No. 9.

Subdurale Infektion mit Virus fixe.	Ammonshorn (1 Präparat untersucht)	Negrische Körperchen positiv
	Kleinhirn (1 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (2 Pr.)	pos.
	Rückenmark (3 Pr.)	neg.

Die Negrischen Körperchen sind sehr klein, von 0,5—1 μ.

Kaninchen No. 10.

Subdurale Infektion mit Virus fixe.	Ammonshorn (1 Präparat untersucht)	Negrische Körperchen negativ
	Kleinhirn (1 Pr.)	neg.
	Medulla oblongata (10 Pr.)	pos.
	Rückenmark (5 Pr.)	pos.

Die Negrischen Körperchen im Rückenmark sind von 3—6 μ. In der Medulla nur von 0,5—1 μ.

Als Kontrollen dienten uns 11 an anderen Krankheiten gestorbene Kaninchen, bei welchen wir im Nervensystem trotz vielfacher und sorgfältiger Untersuchungen keine, den Negrischen Körperchen ähnlichen Gebilde nachweisen konnten. Obgleich unsere Untersuchungen nicht zahlreich sind, schließen wir doch, daß im Nervensystem der an Virus fixe eingegangenen Tiere immer die Negrischen Körperchen nachweisbar sind, wenn eine gute Fixierungs- und Färbungsmethode angewendet wird. Wie oben erwähnt, sind die im Virus fixe vorhandenen Negrischen Körperchen von verschiedener Größe, und zwar sind zwei Hauptformen zu unterscheiden, nämlich kleine, von 1—3 μ, gleichmäßig gefärbte und große, ungleichmäßig gefärbte.

Ob diese Formen verschiedener Entwickelungsstadien einen Parasiten darstellen, sowie ob dieselben von aetiologischer Bedeutung für die Tollwut sind, bleibt bis jetzt noch unaufgeklärt. Es wird von einer verbesserten Fixierungs- und Färbungsmethode abhängen, darüber Aufschluß zu erhalten.

Kritische Betrachtungen über die sogenannte „Syphilisspirochäte".

I. Die „Silberspirochäte".

[Aus dem Zool. Institute der Königl. Universität Berlin (Direktor Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Fr. E. Schulze).]

Von Dr. **Theodor Saling**, Berlin.

Mit 12 Figuren.

(Schluß.)

Wenn ich im vorigen die Nervennatur der „Silberpallida" ausdrücklich betont habe, so möchte ich damit keineswegs in Abrede stellen. daß auch andere Fasergebilde zu Verwechslungen Anlaß geben können, Das habe ich schon in meiner vorigen Abhandlung klar geäußert, um dies aber nochmals ohne Einschränkung zum Ausdruck zu bringen, gebe ich in Fig. 11 ein Photogramm von selbst angefertigten Silberspiralen in dem Bauchfell eines gesunden Kaninchens. Diese Spiralen können mit echten Spirochäten verwechselt werden. Denn wenn sie auch nicht die gedrechselt korkzieherartige Gestalt besitzen, was nach dem obigen überhaupt kein Kriterium mehr ist, so laufen aber ihre Enden ganz spitz zu, wie bei wirklichen Spirochäten. Ich enthalte mich in diesem Falle eines bestimmten Urteils, was für Fäserchen dies sind, möchte aber eher glauben, daß es hier feine elastische Fäserchen sind, welche durch spiralige Deformation Spirochäten vortäuschen. Mit elastischen Fasern ist ja das Bauchfell reichlich versehen, während Nervenelemente mehr zurücktreten.

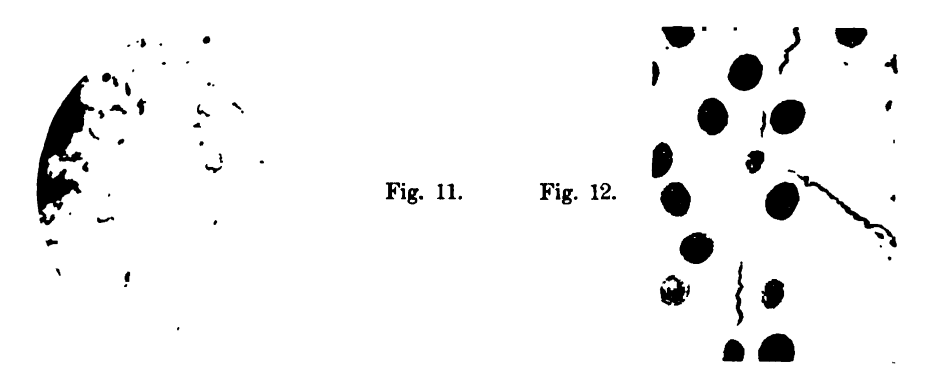


Fig. 11. Fig. 12.

Fig. 11. Photogramm von Silberspiralen in dem Bauchfell eines gesunden Kaninchens.
Fig. 12. Zeichnung von Neurofibrillen aus dem mazerierten Pankreas eines gesunden Kaninchens.

Dagegen sind die in Fig. 12 in dem Pankreas eines gesunden Kaninchens ersichtlichen spirochätenartigen Gebilde wahrscheinlich Neurofibrillen. Die lange Spirale erscheint wie eine „in Längsteilung befindliche Spirochäte". Diese Zeichnung möge als ein weiterer Beitrag den in meiner vorigen Arbeit in den Figuren 18—21 dargestellten Photogrammen angegliedert werden.

Ich kann die kritische Besprechung der Silberspirochäten nicht abschließen, ohne vorher die Frage zu ventilieren, welchen diagnostischen Wert der Spirochätennachweis besitzt. Auch Spirochätenanhänger haben sich nach dieser Richtung hin klar zu werden versucht, und zwar haben Heller und Rabinowitsch (23) die acquirierte, Simmonds (48) die hereditäre Lues berücksichtigt. Doch sind die Resultate für die Spirochätenanhänger keineswegs ermutigend. Denn bei frischer Syphilis konnten nur in 39,6 Proz. der Fälle „*Pallidae*" mittels Giemsafärbung gefunden werden. Und wie oft mögen dabei noch Verwechslungen mit der *Spirochaete refringens* untergelaufen sein! Sicherlich mutet die kurze Bemerkung recht befremdend an, daß in 4 Fällen von Lues auch die „*Refringens*" allein gefunden sei. Also selbst wenn positiv Syphilis vorhanden ist, kann meistenteils die „*Pallida*" nicht nachgewiesen werden. Es fallen mir zwei drastische Beispiele ein. Der erste Fall betrifft einen Patienten, der von Blaschko (12) als luetisch erkannt wurde. Diese Diagnose fand aber keinen Glauben, da beim Patienten keine „Spirochäten" nachweisbar waren. Nach einigen Wochen stellte sich aber ganz unzweideutig die luetische Infektion heraus. Mit Rücksicht auf diesen Fall kommt Blaschko zu der Erkenntnis, daß die Spirochätenmethodik leicht überschätzt werde[1]). Als zweites Beispiel mögen die Resultate von Buschke und Fischer (13) dienen. Beide Autoren beschäftigen sich schon längere Zeit mit der Untersuchung maligner Syphilisfälle und konnten sich die allerdings sehr auffallende Erscheinung nicht verhehlen, daß gerade bei dieser schwersten Erkrankungsform die „*Pallida*" gänzlich fehle. Durch diese Wahrnehmungen werden die Autoren zu einem Fazit gedrängt, das ich des Interesses halber wörtlich zitiere: „Aus diesen Beobachtungen geht also hervor, daß es Fälle gibt, in denen ältere und jüngere intensivere luetische Infiltrate entweder von Spirochäten frei sind oder wenigstens möglicherweise [!] dieselben nur außerordentlich spärlich enthalten, trotzdem offenbar die Infektiosität weiter besteht..... Demgegenüber kann man zu zwei Schlußfolgerungen kommen, wenn [!] man die *Spirochaete pallida* für den ätiologischen Faktor der Syphilis hält. Entweder es genügen ganz vereinzelte im Impfungsmaterial enthaltene Spirochäten, um einen intensiven Impfeffekt zu erzielen; dagegen scheinen die Ergebnisse der bisherigen experimentellen Erfahrungen zu sprechen, ... Wir werden deshalb durch unseren Versuch zu einer zweiten Erklärung gedrängt, auf die wir schon in früheren Arbeiten rekurriert sind, daß wir nämlich in solchen intensiveren Infiltraten das Vorhandensein einer anderen Form der Spirochäte [! von mir gesperrt!] annehmen müssen, immer bei der erwähnten Annahme, daß die Spirochäte ätiologisch ist". Also auch hier wird zum Rückzug geblasen, und man klammert sich in höchster Not an den Pleomorphismus als letzten Rettungsanker.

---

1) Vor der diagnostischen Verwendung der Spirochätenbefunde haben neuerdings auch Finger und Jadassohn gewarnt.

Nach diesem Exkurs zurückkehrend zur diagnostischen Bedeutung des „Spirochäten“befundes, muß ich noch Simmonds erwähnen. Er kommt betreffs der hereditären Lues zu dem Schluß, daß der Spirochätenbefund bei totfaulen Föten „ausschlaggebend“ für die Diagnose, bei Säuglingen dagegen „nur mit Vorsicht zu verwenden“ sei. Da die Diagnose also bei Säuglingen ganz unzuverlässig ist, so muß ich zu meinem Bedauern erklären, daß die praktische Bedeutung der ganzen „Spirochäten“suche sehr minimal ist.

Und nun noch eins. Worauf stützt sich denn die Diagnose? Hiermit werde ich auf einen sehr wunden Punkt geführt, den Rosenbach (39) bereits mit glänzendem Scharfsinn und unerbittlicher Logik kritisch beleuchtet hat. In den meisten Fällen wird nämlich der so wichtige und unerläßliche klinische Befund hintangesetzt, dagegen die Frage nach luetischer Erkrankung sofort in bejahendem Sinne entschieden, sobald sich die geringste, und sei es auch noch so unsichere „Spirochäte“ im Ausstrich oder Schnitt gezeigt hat. Das ist natürlich — wie schon Rosenbach betont — ein Zirkelschluß und ganz unzulässig für den, der es mit wissenschaftlicher Forschung ernst nimmt. Rosenbach hat in diesem Sinne die Arbeiten von Doutrelepont-Grouven und Buschke-Fischer gegeißelt. Ich kann diesen Fällen noch andere anreihen.

Babes und Mironescu (2) untersuchten Syphilome innerer Organe von Neugeborenen und fanden die „Silberpallidae“ in Massen. Die beiden Fälle waren folgende: Das erste Kind, welches cyanotisch geboren wurde und einige Stunden nach der Geburt unter asphyktischen Erscheinungen starb, wurde von Cialic vor der Anatom. Gesellschaft in Bukarest demonstriert. „Nach Angabe des Vortragenden sind alle Organe normal, namentlich keine Zeichen von kongenitaler Syphilis vorhanden, auch keine Knochenveränderung. Auch die Mutter leugnet jede Art syphilitischer Manifestation. Bloß die Lunge ist hochgradig verändert, indem zahlreiche weißliche Geschwülste von der Größe einer Erbse in derselben aufgetreten waren. Derselbe vermutet Gummabildung“. Obwohl nun in anderen Organen keinerlei pathologische Veränderungen wahrnehmbar sind, wird doch das Kind für luetisch erklärt, lediglich auf den „Silberspirochäten“befund hin!

Der zweite Fall betrifft ein Kind, das 1 Tag gelebt hat. Die Mutter zeigte keine luetischen Veränderungen. Die syphilitischen Knochenveränderungen der Ossifikationsgrenze waren undeutlich. An der Hautoberfläche keinerlei Veränderungen, wohl aber waren Leber und Milz bedeutend vergrößert. Weil sich nun in diesen beiden letzten Organen viele „Silberspirochäten“ fanden, war das Kind syphilitisch!

Auch ein von Reuter (38) mitgeteilter Fall ist für mich sehr wertvoll: Ein 44-jähriger Mann erkrankte plötzlich an Kurzatmigkeit und Schmerzen in der Halsgegend. Die Diagnose wurde auf Coronararterienverkalkung gestellt; anamnestisch war eine venerische Infektion nicht nachweisbar. Bei der Sektion des plötzlich auf der Straße verschiedenen Mannes soll sich eine auf den Anfangsteil der Aorta beschränkte Aortitis vom Döhle-Hellerschen Typus mit starker Intimawucherung ergeben haben. Am Präputium fand sich überdies eine etwa erbsengroße, alte Narbe; doch lagen sonst keine Beweise für eine syphilitische Infektion vor; auch histologisch zeigten sich keine gummösen Veränderungen! Auch hier wird diagnostisch Lues festgestellt mit Rücksicht auf die Narbe und den „Silberspirochätenbefund“ in den Endothelwucherungen der Gefäße und

in den Lymphspalten. Von nicht geringem Interesse dürfte es sein, daß Schaudinn gerade in diesem Falle die Silberspirochäten als „*Pallidae*“ sanktionierte, d. h. also in einem Falle von gar nicht erwiesener Syphilis! Reuter sagt allerdings zum Schlusse, er beabsichtige keineswegs, diesen „Spirochäten“befund in der Aortenwand „als einen Beweis für die Syphilisnatur der Spirochäten“ anzusehen. Wie würde sich aber Schaudinn mit dieser Erklärung abgefunden haben?

Als weiteres Beispiel beabsichtigte ich besonders den zweiten Fall aus der Doutrelepont-Grouvenschen Arbeit herauszugreifen, bei dem „trotz fehlender syphilitischer Anamnese und trotz des nicht gewöhnlichen Krankheitsbildes“ der „Silberspirochäten“ wegen Lues diagnostisch konstatiert wurde. Rosenbach hat aber diesen Fall schon gebührend gewürdigt, so daß ich mir ein besonderes Eingehen ersparen kann.

Für mich persönlich sind alle diese Fälle noch von einem anderen Gesichtspunkte aus interessant! Es ist nämlich darin der Nachweis von großen Silberspirochätenmassen geglückt, ohne daß Lues vorlag! Hiermit haben die Spirochätenanhänger den schlagendsten Beweis, daß die „Silberspirochäte“ der Lueserreger auf keinen Fall sein kann, daß sie aber unter Umständen auch im nicht luetischen Gewebe in gleicher Menge und Anordnung dargestellt werden kann, sobald nur die Zersetzungsverhältnisse annähernd dem Status in luetischen Geweben ähnlich sind. Der Beweis von der ätiologischen Bedeutungslosigkeit der „Silberspirochäte“ für die Syphilis konnte nicht gründlicher erbracht werden!

Mithin ist bewiesen, daß die „Silberspirochäten“ zur Syphilis in keiner ätiologischen Beziehung stehen, daß sie vielmehr durch den Krankheitsprozeß stark deformierte Gewebselemente sind. Sache der Spirochätenanhänger war es von vornherein, erst zu beweisen, daß die „*Pallida*“ der Lueserreger ist, denn „das Problem ist ja“ — wie Rosenbach sagt — „den Erreger der Lues erst festzustellen, und man darf nicht, wenn man die *Spirochaete pallida* dafür hält, das erst zu Beweisende als bewiesen annehmen“. Das ist aber nicht geschehen, im Gegenteil haben die Spirochätenanhänger mit Rücksicht auf die „Autorität“ Schaudinns die Prämisse aufgestellt: „die *Pallida* ist der Lueserreger“, sodann immerfort „bestätigt“ und einen Gegenbeweis ihrer eventuellen Gegnerschaft überlassen. Dieser Gegenbeweis ist jetzt erbracht, und wenn die Spirochätenanhänger es überhaupt noch für möglich halten, die Parasitennatur der „Silberspirochäte“ oder eventuell der „Giemsa-Spirochäte“ — aber auch da wäre diese Mühe umsonst, wie ich in meiner nächsten Abhandlung zeigen werde — einwandfrei zu beweisen, so mögen sie bei ihren Versuchen der Rehabilitation der „Silberspirochäte“ folgendes nicht übersehen: Der Beweis von der Parasitennatur der „Silberspirochäte“ kann nur an Versuchstieren, z. B. Affen, geführt werden! Man nehme also einen luetischen Affen, töte ihn, solange er noch volle Lebendigkeit zeigt, und konserviere innere Organe, die noch nicht mazeriert sein dürfen, nicht etwa nach Levaditischen Methoden, sondern nach solchen, die in der Histologie als exakt und weder Schrumpfung noch Quellung hervorrufend bekannt sind; man imprägniere dann mit Silber und bette vorsichtig ein. Ließe sich alsdann neben dem zur Darstellung gekommenen Nervenapparat mit seinen Feinheiten und Ausläufern auch noch die ungeheure Menge der „Silberpallidae“ kon-

statieren und ferner zugleich ihre Anwesenheit in gleicher Menge auf Ausstrichen derselben Organe, dann wäre über die Behauptung, daß die „Silberspirochäten“ Mikroorganismen seien, schon eher zu diskutieren, ob diese aber dann wirklich auch die Lueserreger und nicht etwa einer Sekundärinfektion entstammende Saprophyten sind, das bliebe noch eine ganz andere Frage!

Nachtrag: Einige meiner Photogramme sind leider nicht mit der wünschenswerten Schärfe zum Ausdruck gekommen. Die Wiedergabe als Textfiguren eignet sich, wie ich nachträglich sehe, für Photogramme von sehr feinen Gebilden nicht besonders. Es sei nochmals hervorgehoben, daß eine Identifizierung der sogenannten „Lues-Silberspirochäten“ im Gewebe mit echten Spirochäten durchaus unzulässig ist. Das habe ich mittlerweile auch an anderer Stelle (Sitzber. Ges. naturf. Fr. Berlin. 1906. No. 9) unter Beifügung von beweisenden Photogrammen klargelegt. Die sogenannten „Silberspirochäten“ im Gewebe sind deformierte Gewebsbestandteile und Mazerationsprodukte; man findet diese Gebilde da, wo eine Zersetzung eingeleitet wurde, sei es nun auf künstlichem oder noch besser auf natürlichem Wege durch einen Krankheitsprozeß. Diese meine Ansicht findet auch eine Bestätigung durch die neuerdings am nekrotischen Gewebe erhaltenen Resultate. Róna (Derm. Kongr. Bern. 1906) fand nämlich bei Noma, Nosokomialgangrän, Ulcus gangraenosum und Lungenbrand mittels der Silbermethode ebenfalls spiralig deformierte Gewebsfibrillen; ebenso erging es Dreyer (Derm. Centralbl. Bd. X. No. 2) bei der Untersuchung spitzer Kondylome. Die seit Anwendung der Silbermethode hereingebrochene allgemeine Verwirrung wird nun immer ausgedehnter, indem auch diese Silberspiralen für „Spirochäten“ erklärt werden. Die Spirochätenforschung hat überraschend schnell auch hier den Schleier gelüftet, und die Beharrlichkeit, mit der man spiralig deformierte Gewebsfasern falsch deutet, wird vielleicht noch zu dem Kuriosum führen, daß „Silberspirochäten“ auch bei Krankheiten entdeckt werden, deren Erreger schon definitiv sichergestellt sind. Der Umstand, daß bei einigen echten Spirillosekrankheiten (Hühnerspirillose, Recurrens) auch solche „Silberspirochäten“ gefunden worden sind, gestattet nicht etwa den Schluß, daß deshalb auch der Erreger der Syphilis, die weder im klinischen noch im mikroskopischen Bilde etwas mit Spirillosen gemein hat, eine Spirochäte sein müsse, sondern zeigt nur, daß auch bei Spirillosen das Gewebe soweit gelockert und deformiert werden kann, wie es für die Darstellung von sogenannten „Silberspirochäten“ erforderlich ist.

Die neueste Schrift von Dreyer (Med. Klinik. 1906. No. 51) beweist genau das Gegenteil von dem, was sie vermutlich soll. Wenn der Autor sagt: „Schulzes Photogramme zeigen Bilder mit äußerst engen und feinen Spiralen, wie sie mir bei gleichen Vergrößerungen weder von der *Spirochaete pallida* und noch weniger von der *Refringens* in Gewebsschnitten bekannt sind. ... An der Bedeutung und an der Unterscheidbarkeit der *Spirochaete pallida* und *refringens* vermögen sie aber einen Zweifel nicht zu erwecken, da diese Spiralen mit keiner von beiden im Aussehen übereinstimmen,“ so ist es unverständlich, wie er zu dieser Aeußerung kommt, nachdem er einige Sätze vorher erklärt hat: „Infolge der durch die Alkoholhärtung bedingten Schrumpfung der Spirochäten fällt aber die Höhe und Enge der Windungen als Unterscheidungs-

merkmal in Gewebsschnitten weniger in die Wagschale." Interessant ist mir übrigens das Zugeständnis dieses Spirochätenanhängers, daß „auf den Mangel der durch die Farbe gelieferten Unterschiede" (ein von Schaudinn und Hoffmann aufgestelltes Kriterium) am wenigsten Wert zu legen sei, denn „eine große Anzahl Exemplare der *Spirochaete refringens*, wie man sie z. B. in spitzen Kondylomen findet, zeigt ebenfalls keinen blauen Farbenton bei der Giemsa-Färbung, sondern einen roten".

Die Unterscheidbarkeit der *Spirochaete pallida* in Gewebsschnitten soll sich nach Dreyer aus folgendem Falle ergeben: Ein mit Gonorrhöe behafteter Patient besaß am 9. Tage nach der Infektion „am inneren Vorhautblatt eine Anzahl zirzinär begrenzter Erosionen mit weißlichem Epithelsaum. Einzelne Erosionen zeigen gelblichen Belag. . . . Der Belag der Geschwüre enthielt zahllose jener weitgeschweiften und unregelmäßigen Spirillen, die von Berdal und Bataille zuerst beschrieben wurden, und neben anderen Bakterien viele fusiforme Bacillen." Eine nach Bertarellis Silbermethode behandelte Erosion ergab im Schnitt „zwar das histologische Bild des balanitischen Geschwürs, wie es von Müller und Scherber gezeichnet ist, mit einer außerordentlich dichten, tiefreichenden Infiltration polynukleärer Zellen, aber deutlich enge, gleichmäßig und zahlreich gewundene *Spirochaetae pallidae* . . . ., so daß ich die Prognose auf eine Doppelinfektion stellen mußte. Am 20. Nov. war das Drüsenpaket der linken Leiste hühnereigroß, und am Rumpf ist ein makulopapulöses Syphilid erschienen. Der Verlauf hat hier also eine bakteriologische Diagnose bestätigt, die auf Grund des klinischen Bildes nicht zu stellen war." Ich vermag dieser Logik nicht zu folgen. Meines Erachtens resultiert aus dem mitgeteilten Falle: 1) Daß jene „weitgeschweiften und unregelmäßigen Spirillen" (also echte Spirillen) in dem Dreyerschen Präparat mit Hülfe der Silbermethode nicht zum Vorschein kamen; 2) daß andererseits die „engen, gleichmäßig und zahlreich gewundenen" Silberspirochäten, die der Autor fälschlicherweise für „*Pallidae*" hält, vorher mittels der Giemsa-Methode, welche echte Spirochäten sofort zur Darstellung bringt, nicht vorhanden waren und 3) daß bei Syphilis die nach Giemsa tingierte „*Pallida*" also auch fehlen und somit nicht der Lueserreger sein kann.

All die vielen Arbeiten, welche den Nachweis von sogenannten „Silberspirochäten" im luetischen Gewebe erbracht haben, kommen bei der Frage nach der Aetiologie der Syphilis überhaupt nicht in Betracht. Wirklich echte (mittels Farbstoffen darstellbare) Spirochäten resp. Spirillen sind bisher weder in inneren Organen noch im Blute, sondern nur in den Hautaffektionen und auf der Mundschleimhaut gesehen worden, wo völlig gleichgestaltete Saprophyten zu finden sind. Die Luesforschung ist also wieder auf dem am Ende des Jahres 1905 erreichten Stand, oder richtiger gesagt Stillstand, angelangt. Daß aber auch diese „Giemsapallida" nicht der Lueserreger sein kann, werde ich in nächster Zeit ausführlich darlegen unter genauer Berücksichtigung der Literatur und an der Hand eingehender Nachprüfungen.

Literatur.

1) Apáthy, Das leitende Element des Nervensystems etc. (Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. XII. 1897.)
2) Babes und Mironescu, Berl. klin. Wocheuschr. 1906. No. 34.
3) Bandi und Simonelli, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLI. Heft 5.
4) Beer, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 30.
5) Beitzke, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 24.
6) Benda, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 29.
7) Berger, Dermatol. Zeitschr. Bd. XIII. Heft 6.
8) Bertarelli, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLI. Heft 1 u. 2.
9) — —, Ibid. Heft 3.
10) — —, Ibid. Heft 6.
11) Blaschko, Med. Klinik. 1906. No. 13.
12) — —, Ibid. No. 35.
13) Buschke und Fischer, Med. Klinik. 1906. No. 38.
14) Cuccati, Internat. Monatsschr. f. Anat. u. Phys. Bd. VI. 1889. Heft 7.
15) Doutrelepont und Grouven, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 23.
16) Ehrmannn, Dermatol. Zeitschr. Bd. XIII. Heft 6.
17) — —, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 28.
18) Entz, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LXXXI. Heft 1.
19) Flügge, Vossische Zeitung v. 28. Juni 1906. 1. Beil.
20) Friedenthal, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 37.
21) Frohwein, Med. Klinik. 1906. No. 17.
22) Greeff und Clausen, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 36.
23) Heller und Rabinowitsch, Med. Klinik. 1906. No. 28.
24) Heubner, Die luetische Erkrankung der Hirnarterien. 1874.
25) Hoffmann und Beer, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 22.
26) Klein, Quat. Journal of micr. sc. Vol. XI. N. S. 1871.
27) Kölliker, Handbuch der Gewebelehre.
28) Leuriaux und Geets, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLI. Heft 6.
29) Levaditi, Annales de l'Inst. Pasteur. 1906. Heft 1.
30) Levaditi et Manouélian, Compt. rend. de la soc. de biol. 1906. p. 304 ff.
31) Lipschütz, Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 37.
32) Löwy, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LXXXI. Heft 1.
34) Petrescu, Revista stiintelor medicale. 1905. No. 8.
35) Raeke, Vortrag in der Med. Ges. in Kiel. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1906. Sept.)
36) Reis, Sitz.-Ber. d. 33. Vers. d. Deutsch. ophthalmol. Ges. (Ibidem.)
37) Retzius, Biologische Untersuchungen.
38) Reuter, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LIV. Heft 1.
39) Rosenbach, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 35/36.
40) Saling, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLI. Heft 7/8; Bd. XLII. Heft 1/2.
41) Scherber, Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 24.
42) Schlimpert, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 26.
43) Schütz, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 12.
44) Schulze, Walter, Klin. Monatsschr. f. Augenheilk. Bd. XLIII.
45) — —, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 37.
46) Siegel, Abhandl. d. Königl. Preuß. Akad. d. Wissensch. 1905.
47) Simmonds, Demonstration. (Offiz. Protok. in Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 29.)
48) — —, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 27.
49) Sobernheim und Tomasczewski, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39.
50) Stöhr, Lehrbuch der Histologie. 12. Aufl. Jena 1906.
51) Tomasczewski, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 27.
52) Versé, Med. Klinik. 1906. No. 24—26.
53) Wolff, Anat. Anz. Bd. XXVI. 1905.
54) Zelinka, Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXI. 1882.

Zur Kritik der Silberspirochäte.

Von Privatdozent Dr. **H. Beitzke.**

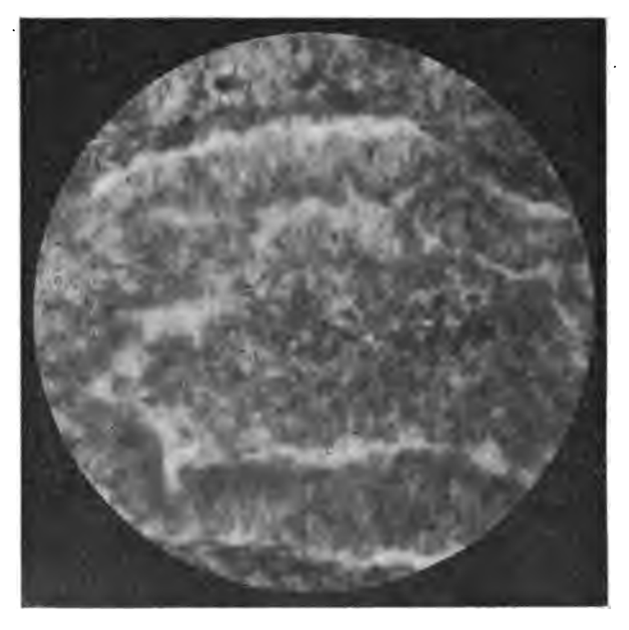
Mit 1 Figur.

In mehreren Publikationen hat sich vor kurzem Saling[1]) gegen die *Spirochaete pallida* gewandt, sie für einen harmlosen Saprophyten erklärt, wenn sie im Ausstrichpräparat, für Nervenfibrillen, wenn sie im Schnittpräparat dargestellt ist, und dabei einen so scharfen Angriff gegen meine diesbezügliche Arbeit[2]) gerichtet, daß ich nicht unterlassen kann, darauf zu erwidern. Wenn zunächst Saling an meiner Angabe, die Spirochäten seien in der Regel im Schnitt und im Ausstrich eines Organes gleichzeitig nachzuweisen, Anstoß nimmt, weil mir in mehreren Fällen dieser gleichzeitige Nachweis nicht glückte, also eine „Regel" nicht bestehe, so ist das ein Streit um Worte, auf den näher einzugehen ich mir wohl ersparen kann. Wenn ich nach längerem Suchen im Ausstrich manchmal nur vereinzelte Exemplare der *Spirochaete pallida* fand, so erklärt Saling das für „höchst anfechtbare Resultate". Demgegenüber muß ich daran erinnern, daß z. B. bei der Tuberkulose die Tuberkelbacillen auch nicht immer in Mengen vorhanden sind, und daß man bei gewissen Formen, wie beim Lupus, gewöhnlich auch erst nach stundenlangem Suchen vereinzelte Tuberkelbacillen findet; deswegen ist aber die ätiologische Bedeutung des Tuberkelbacillus für den Lupus noch nicht in Frage gestellt. Was nun die mazerierten Föten angeht, die ich übrigens ausdrücklich von denjenigen Fällen ausgenommen habe, in denen eine Uebereinstimmung zwischen Ausstrich- und Schnittpräparat besteht, so kann das Nichtgelingen der Ausstrichpräparate einfach daran liegen, daß die Spirochäten nach einer tage- und wochenlangen Mazeration das Ausstreichen nicht mehr vertragen, oder daß zu ihrer Sichtbarmachung die subtile Giemsa-Färbung nicht mehr ausreicht, während sie in Schnitten durch die viel eingreifendere Silberimprägnationsmethode noch dargestellt werden können. Im übrigen muß ich Saling gegenüber aufrecht erhalten, daß das 6 Tage post partum sezierte Kind No. 13 meiner Arbeit nicht mazeriert war. Es ist Saling offenbar unbekannt, daß man unter Mazeration eines Fötus in der Pathologie eine aseptische Autolyse in utero versteht, dagegen die bei längerer unzweckmäßiger Aufbewahrung einer Leiche auftretenden Veränderungen als Fäulnis bezeichnet. Bei dem erwähnten Kind No. 13 war weder das eine noch das andere der Fall, sondern es handelte sich um eine in intaktem Zustande geborene Frucht, die 6 Tage lang auf Eis aufbewahrt worden war, weil sie aus äußeren Gründen nicht eher hatte seziert werden können; hier habe ich die Spirochäten im Schnitt und Ausstrich gleichzeitig in mäßigen Mengen gefunden. Wenn sich nun gerade in den mazerierten syphilitischen Früchten die Spirochäten im Schnitt fast ausnahmslos in ungeheuren Mengen nachweisen lassen, so ist das eine Hauptstütze für die ätiologische Bedeutung der Spirochäte; denn eine

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLI, XLII, XLIII. Wien. klin. Rundschau. 1906. No. 47 u. 48.

2) Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 24.

Invasion mit Saprophyten ist im Mutterleibe ausgeschlossen, und daß die Spirochäten keine Nervenfibrillen sind, wie W. Schulze[1]) und Saling behaupten, beweist ihre mitunter anzutreffende Lagerung in so dichten Büscheln, daß das ganze Gewebe stellenweise geschwärzt ist, beweist vor allem, wie Levaditi[2]) schon treffend hervorhebt, ihre Lagerung im Lumen der Bronchien und Gefäße, wo auch die eben genannten beiden Autoren den Nervenfibrillen keine Existenzberechtigung zuerkennen werden. Salings Behauptung, daß die von meist „totfaulen" Früchten stammenden Organe derartig mazeriert seien, daß von einem unversehrt gebliebenen Lumen überhaupt nicht mehr gesprochen werden könne, ist aus der Luft gegriffen. Ich besitze Dutzende von Schnitten, die das Gegenteil beweisen. Im übrigen stammen einige



Zeiss Obj. DD Ocul. 5, Vergr. 550. Bucky phot. Erklärung im Text.

der schönsten Präparate von Spirochäten im Bronchiallumen von nicht mazerierten Kindern, so das in dem beigegebenen Photogramm abgebildete, das aus dem von Gierke[3]) unter No. II veröffentlichten Falle herrührt, und für dessen gütige Ueberlassung ich dem Herrn Kollegen sehr zu Dank verpflichtet bin. Das Bronchialepithel ist vollständig erhalten, im Lumen des Bronchus liegen zwischen den Exsudatzellen dichte Knäuel von Spirochäten. Saling wird schwerlich behaupten können, daß diese Knäuel beim Mikrotomieren „durch das Messer ins Lumen hineingerissen" seien. Tangentiale Schnitte von Bronchialwandungen sind hier ebenfalls ausgeschlossen; in einer ganzen Reihe von Schnitten desselben Falles war das Bild das gleiche.

1) Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 37.
2) Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 42.
3) Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 9.

Eine Hauptstütze seines Angriffs auf die Spirochäten bietet Saling ihr Verhalten in der Cornea des geimpften Kaninchens; er findet es merkwürdig, daß die Parasiten in verschiedener Höhe schichtweise übereinander hinstreichen sollen, wobei sie sich rechtwinkelig kreuzen. Saling weiß offenbar nicht, daß man genau dieselben Gitterfiguren erhält, wenn man eine durch Kochen oder auf andere Weise abgetötete Cornea in die Bauchhöhle eines Versuchstieres implantiert und die Leukocyten dieses Tieres zur Einwanderung in die Cornea veranlaßt[1]). Auch hier bewegen sich die Leukocyten „gleichsam in militärisch gerichteten Reihen", in rechtwinkelig sich übereinander kreuzenden Schichten. Diese Lagerung der Spirochäte ist also gerade ein Beweis für ihre Einwanderung. Nun ist es aber W. Schulze gelungen, in einer mit Straßenschmutz infizierten, sicher nicht syphilitischen Kaninchencornea spirochätenähnliche Nervenfasern aufzufinden. Ein solches Präparat ist mir in sehr dankenswerter Weise von Herrn Saling zur Ansicht vorgelegt worden. Als ich mit demselben Mikroskop und derselben Vergrößerung ein von mir zum Vergleich mitgebrachtes Spirochätenpräparat einstellte, war der Unterschied sofort evident: Die Spirochäten viel kleiner, dünner, mit regelmäßigen Windungen, die Nervenfibrillen bedeutend länger, dicker, sehr unregelmäßig gewunden, ähnlich wie auf der von Saling in diesem Centralblatt Bd. XLIII. p. 75 abgebildeten Fig. 1.

Die Bemühungen Salings, aus der Silberspirochäte Nervenfibrillen zu machen, dürften nach alledem ebensowenig Erfolg haben wie der seinerzeit gemachte Versuch, die in Ausstrichen syphilitischer Affektionen gefundene Spirochäte zu einem Bewohner der Farbstofflösungen zu stempeln. Wir haben es bei der *Spirochaete pallida*, mag sie nun nach Giemsa oder nach Ramón y Cajal dargestellt sein, mit einem Mikroorganismus zu tun. Es ist gewiß denjenigen Autoren recht zu geben, die die Anerkennung der *Spirochaete pallida* als Erreger der Syphilis von einer erfolgreichen Tierimpfung mit einer Reinkultur abhängig machen. Bisher dürfte aber die ätiologische Bedeutung der *Spirochaete pallida* für die Syphilis ebenso fest gestützt sein wie die des Hansenschen Bacillus für die Lepra oder die von Obermeiers Spirochäte für das Rückfallfieber. Daran wird auch die mitunter wenig sachliche Polemik Salings nichts ändern.

1) Lange, Centralbl. f. Pathol. Bd. VIII. p. 209.

Note on an acarid-like parasite found in the omentum of a negro.

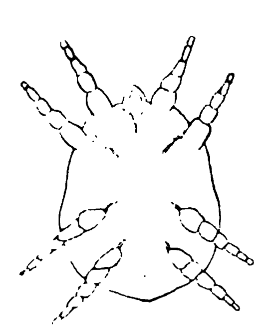
By **Aldo Castellani**, M. D.,
Director of the Clinic for Tropical Diseases. Colombo, Ceylon.

With 1 figure.

The recent publication of Newstead and Todd on acarida as internal parasites of monkeys, induces me to publish an observation I made in Uganda, some time ago, while performing a post-mortem examination on a Beganda native who had died of sleeping sickness. The body did not present any ulcers on the skin, nor intestinal ulceration. A portion of the omentum was removed and placed in a sterile Petri dish for the purpose of dissecting it and searching for adult individuals of *Filaria perstans*. As soon as the post-mortem was completed I began the dissection. After a rather long dissection, I saw, deeply imbedded in the fat, a tiny greyish, dark, cystik-like formation. This was opened and an extremely minute yellowish dark body extracted, together with a little piece of the capsule. The microscopical examination made using a low power revealed an acarid-like parasite. The parasite did not show any movement, was dark yellowish in colour, the body was oval and was furnished with six legs. I was surprised, as certainly the parasite could not have come from outside, penetrating so deeply and becoming incysted during the half hour which had elapsed between the opening of the abdomen and the dissection.

Preceeding with the dissection, a second similar parasite was found deeply imbedded in the fat tissue.

My work lying at the time in quite a different direction the observation was not worked out more thoroughly. A rough semi-schematic drawing of the parasite was made. The specimen was placed in common spirit and is still in my possession. Unfortunately it has shrunk very considerably and is no longer of use for a minute investigation. The following principal characters, however, can still be easily made out: The parasite is a female; the colour is dark yellowish, the shape of the body is oval; palpi very short; six legs, well developed, apparently without hairs; each leg is composed of five segments. Total length of the body, 0,55 mm. The parasite seems to me to bear great resemblance to *Cytoleichus sarcoptoides* (Heguin), which lives in the air-sacs of fowls and is also found occasionally in their liver, kidneys, and other organs.



Reference.

Newstead and Todd, Thompson Yates Laboratories Reports. 1906.

Nachdruck verboten.

Ueber den Unterschied zwischen natürlichen und künstlichen Aggressinen.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]

Von Prof. A. Wassermann und Dr. J. Citron.

Ueber das obige Thema zieht sich seit Juli 1905 eine fast ununterbrochene Reihe von Publikationen polemischer Natur gegen uns seitens Bails und seines Mitarbeiters Weil aus dem Hueppeschen Institut in Prag durch die Literatur. Es kommen dabei folgende Publikationen in Frage:

1) Weil, Edm., Die schützenden Eigenschaften des Blutes von aggressinimmunen Hühnercholeratieren. (Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905. p. 149—184.)
2) Bail, Oskar, Ueber den Zusammenhang zwischen Aggressivität und Leibessubstanz von Bakterien. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 37.)
3) — —, Beziehungen zwischen Aggressivität und Leibessubstanz von Bakterien. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39 u. 40.)
4) — —, u. Weil, Edm., Unterschiede zwischen aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XL. 1906. H. 3.)
5) Weil, Edm., Ueber Aggressinimmunisierung von Schweinen gegen Schweineseuche. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI. 1906. p. 121.)
6) Bail, Osk. u. Weil, Edm., Bemerkungen zu dem Aufsatze Citrons: „Ueber natürliche und künstliche Aggressine. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI. 1906. H. 5.)
7) — — Bakterienaggressivität und Bakterienextrakte. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLII. 1906. H. 1, 2, 3, 4, 5, 6.)
8) Bail, Oskar, Morphologische Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 43.)

Schon aus der Zahl und dem Umfange dieser Veröffentlichungen geht hervor, daß es natürlich ganz ausgeschlossen ist, auf jeden Satz und jedes Detail in diesen Arbeiten einzugehen. Es ist dies indessen auch nicht nötig, wie wir im weiteren Verlaufe sehen werden.

Am raschesten dürften wir dabei zum Ziele kommen, wenn wir den Gegenstand der Streitfrage hier nochmals genau präzisieren. Bail hat in seinen ersten Arbeiten das Prinzip aufgestellt, daß im Kampfe zwischen Organismus und Mikroorganismen spezielle Angriffsstoffe, Aggressine, entstehen, welche die Bakterien in ihrer Aggressivität unterstützen und zwar dadurch, daß sie die Abwehrwaffen des Körpers, nach Bail die Leukocyten, von den Bakterien fernhalten. Als Beweis für die Existenz dieser Stoffe und die Richtigkeit seiner Annahme führt Bail folgende Experimente an:

1) Die von den lebenden Keimen befreiten Körperexsudate infizierter Tiere befördern, ohne selbst infektiös oder giftig zu sein, die Infektion.

2) Die Vorbehandlung mit derartigen Körperexsudaten erzeugt eine aktive Immunität.

3) Bei den derartig vorbehandelten Tieren lassen sich im Serum spezifische, schützende Stoffe nachweisen, Antiaggressine Bails.

Bail sieht nun in den Aggressinen bezw. in ihren Gegenstoffen, den Antiaggressinen, den Schlüssel zu einer neuen Art von Immunität, die sich von unseren bisher bekannten Immunitätszuständen unterscheidet. Wir haben ebenfalls zu dieser Frage Stellung genommen und konnten vor allen Dingen die tatsächlichen experimentellen Feststellungen Bails, nämlich die infektionserhöhende Wirkung der Exsudate, die Möglichkeit,

mit ihnen aktiv zu immunisieren, resp. durch Vorbehandlung mit ihnen, ein spezifisches Serum zu erhalten, vollkommen bestätigen. Wir betonen dies besonders, um beim Leser keinen Zweifel obwalten zu lassen, daß es sich im nachfolgenden, wie überhaupt in der ganzen Diskussion, nur um die Deutung dieser Befunde handelt. Wenn wir darin auch, unseren Experimenten nach, nicht Bail folgen können, so bleibt diesem Forscher doch das unbestreitbare Verdienst, daß wir einerseits durch seine eigenen, andererseits durch die gegen deren Deutung unternommenen Arbeiten neue Immunisierungsmethoden bei solchen Infektionserregern kennen gelernt haben, bei welchen eine künstliche Immunisierung bisher sehr schwer und nur unter großen Gefahren für den Impfling möglich war.

Im Gegensatze zu diesen tatsächlichen Bestätigungen konnten wir dagegen Bail nicht in derjenigen Deutung seiner Experimente folgen, die er vor unserer ersten Arbeit gab, wonach es sich nämlich bei den wirksamen Stoffen in den aggressiven Exsudaten um besondere, im infizierten Organismus entstandene Substanzen handle. Wir stützten diese unsere abweichende Meinung auf Experimente, aus denen hervorging, daß man die infektionsbefördernde Wirkung ganz analog wie mit den natürlichen Aggressinen auch mit Schüttelextrakten aus lebenden Reinkulturen erlangen kann. Die Extrahierung lebender Bacillen durch Schütteln mit destilliertem Wasser wurde zum ersten Male, wie dieses aus der ersten ausführlichen Arbeit des einen von uns (1) zu ersehen ist, von Brieger, Bassenge und Meyer (8) zum Zwecke der Typhusimmunisierung angewendet. Unsere Versuchsanordnung unterschied sich dadurch von derjenigen Briegers, daß wir die Schüttelextrakte, nicht wie dieser Autor durch Filtration keimfrei machten, eine für den Ausfall unserer Experimente sehr wichtige Einzelheit (vergl. hierzu die Verh. der fr. Ver. f. Mikrobiologie) (3), sondern die lebenden Bakterien durch Zentrifugieren, Erhitzen auf 44° und geringen Zusatz von Desinfektionsmitteln (Karbol, Chloroform) sterilisierten. Wir wendeten also auf diese Schüttelextrakte genau die Aggressinmethodik von Bail an. Bail und Weil hielten nun diesen unseren ersten Befunden entgegen, daß sie nur eine Eigenschaft der natürlichen Aggressine wiedergäben, nämlich die infektionsbefördernde Wirkung der Exsudate, nicht aber die zwei anderen wichtigsten, nämlich aktiv zu immunisieren und spezifisch schützendes Serum zu erzeugen.

Wir hatten zwar bereits zu dem Zeitpunkte, als unsere erste Arbeit erschien, eine Reihe von experimentellen Resultaten von Schweineseuche- und Schweinepestimmunisierung in Händen, welche uns gelehrt hatten, daß auch hierin unsere künstlichen Bakterienextrakte sich nicht von den natürlichen Exsudataggressinen unterschieden. Indessen wollten wir diese nicht nur theoretisch, sondern auch praktisch wichtige Frage erst allseitig durchprüfen, auch über die Höhe und Dauer der mit unseren Bakterienextrakten zu erzielenden Immunität ins klare kommen, ehe wir die Befunde publizierten. Es wurden daher diese Untersuchungen auf der Wassermannschen Abteilung des Instituts für Infektionskrankheiten fortgesetzt und durch den einen von uns veröffentlicht. Auf Grund der in diesen Arbeiten niedergelegten Experimente wurde endgültig der Standpunkt vertreten, daß in den natürlichen Aggressinen nichts anderes wirksam sei, als die gleichen ausgelaugten Bakteriensubstanzen, die man auch bei der künstlichen Extraktion lebender Kulturen in vitro gewinnen kann. Es bestehen demnach unserer Ansicht

nach zwischen den natürlichen und unseren künstlichen Aggressinen (Kultur-Extrakten) keine prinzipiellen Unterschiede.

Während sich nun, soweit wir die Literatur übersehen, alle Autoren, welche über diesen Gegenstand gearbeitet haben, unserer Ansicht anschlossen (Gruber, Pfeiffer, Bettencourt, Doerr, Ballner), suchte Bail mit seinen Mitarbeitern in einer großen Reihe von Publikationen (s. das Verzeichnis am Eingange dieses Aufsatzes) weiterhin prinzipielle Unterschiede für die Wirkung der natürlichen Aggressine und der Bakterienextrakte auf den lebenden Organismus aufzufinden. Unter den zahlreichen Punkten, die er in dieser Richtung ins Feld führt, war der wichtigste der, daß es bis jetzt nicht gelungen sei, mit künstlichen Aggressinen gegen Hühnercholera zu immunisieren, während dies mit natürlichen leicht gelänge. Gerade die Hühnercholera sei aber ein Prüfstein und Beweis für die bestehenden Unterschiede zwischen den natürlichen und künstlichen Aggressinen, und für die gesamte Aggressinlehre, denn dieser Mikroorganismus sei für Kaninchen und Tauben ein Ganzparasit, während die Schweineseuchebacillen dies nicht seien. Besonders aber bei den Ganzparasiten entständen während der Infektion die natürlichen Aggressine, und hier auf diesem schwierigsten Gebiete der künstlichen Immunität, feiere daher die neue Aggressinlehre ihre schönsten Triumphe. Neben diesem, unserer Ansicht nach hauptsächlichsten, Einwande hielt sich Bail an mehr untergeordnete Einzelpunkte, so beispielsweise daran, daß die natürlichen Aggressine eine stärker abwehrende Wirkung auf die Leukocyten hätten als die künstlichen. Die künstlichen Aggressine wirkten mehr auf die in den Körpersäften gelösten antiinfektiösen Stoffe, die natürlichen mehr auf die Leukocyten. Ganz abgesehen davon, daß wir nach dem heutigen Stande der Wissenschaft überhaupt keinen derartigen schematischen und prinzipiellen Unterschied zwischen der Intervention von Leukocyten und von gelösten antiinfektiösen Substanzen bei den Immunitätsreaktionen mehr zugeben können, haben Citron (4) und Doerr (5) gezeigt, daß auch seitens der künstlichen Extrakte eine negative chemotaktische Wirkung auf die Leukocyten nachgewiesen werden kann. — Uebrigens sehen wir aus der letzten, eben erschienenen Arbeit Bails (6), daß Bail jetzt selbst diesen Punkt nicht mehr als prinzipiell wichtig auffaßt und wir können unsere Beurteilung dieser „cellulären" oder „humoralen" Wirkung nicht besser als mit den eigenen Worten Bails präzisieren, daß es sich hierbei um eine „Doktorfrage" handelt. Was den weiteren Einwand von Bail betrifft, daß nämlich die natürlichen Aggressine gar nicht komplementbindend wirken könnten, weil sie selbst noch freies Komplement enthalten, so ist dies nach dem eben auseinandergesetzten, ohne auf die Richtigkeit dieses Schlusses selbst eingehen zu wollen, für die Beantwortung der Hauptfrage völlig gleichgültig. Praktisch ist es ganz irrelevant, ob die natürliche Widerstandskraft eines Organismus durch einen Faktor in der Weise gebrochen wird, daß er etwas mehr auf die Leukocyten und etwas minder auf die gelösten antiinfektiösen Substanzen wirkt, oder ob dies umgekehrt ist. Und ebenso ist es praktisch gleichgiltig, ob bei der künstlichen Immunisierung etwas mehr das eine oder das andere Phänomen hervortritt. Wer viel in diesen Dingen gearbeitet hat, weiß genau, wie Bail dies jetzt selbst zugibt, daß für diese Vorgänge im lebenden Organismus überhaupt keine starren Grenzen aufzustellen sind. Genau das gleiche Typhusserum, unter dessen Einfluß im Meerschweinchenperitoneum sich fast alle sichtbaren Vorgänge in den

freien Körperflüssigkeiten abspielen (Pfeiffersches Phänomen), wirkt hauptsächlich durch Vermittelung der Leukocyten, wenn man das gleiche Experiment in der Blutbahn von Kaninchen vornimmt (Metschnikoffsches Phänomen). Somit bleibt als einziger stichhaltiger Einwand und bisher noch nicht beseitigter Unterschied zwischen natürlichen und künstlichen Aggressinen der, daß man bisher gegen Hühnercholera mit natürlichen, aber nicht mit künstlichen Aggressinen zu immunisieren ver-vermochte. Und auch dieses letzte Bollwerk ist nun gefallen. Denn, wie aus einer demnächst in der Zeitschr. f. Hyg. erscheinenden, auf der Wassermannschen Abteilung des Instituts für Infektionskrankheiten ausgeführten Arbeit von Citron und Pütz[1]) zu ersehen ist, gelingt es mit großer Zuverlässigkeit, Kaninchen und sogar Tauben gegen Hühnercholera mit unseren Extrakten zu immunisieren.

Somit steht die Streitfrage heute folgendermaßen. Alles, was bisher von den natürlichen Aggressinen in Bezug auf Infektionsbeförderung und Immunisierung gezeigt wurde, kann auch mit Bakterienextrakten erzielt werden. In den natürlichen Aggressinen kann man das Vorhandensein extrahierter Bakteriensubstanzen, andererseits in den Bakterienextrakten Aggressinwirkung nachweisen. Damit ist für uns und wohl die meisten Autoren der Kreis dahin geschlossen, daß natürliches und künstliches Aggressin das gleiche ist; für Bail dagegen dahin, daß sich in seinem natürlichen Aggressin als Nebenbestandteil, gleichsam Verunreinigung, noch unsere Bakterienextrakte und dementsprechend, so muß man dann doch wohl weiter schließen, in unseren Kulturextrakten sich noch etwas vom natürlichen Aggressin findet. Denn beide haben ja die gleichen Wirkungen. — Welcher unter diesen zwei Ansichten man sich mehr zuneigen soll, ist bei dieser Sachlage unserer Meinung nach mehr eine Geschmacks- als Streitfrage, über die sich bekanntlich nur sehr schwer Einigung erzielen läßt. — Wir schlagen daher unter diesen Umständen unseren geehrten Herren Opponenten vor, falls sie damit einverstanden sind, die Diskussion darüber zu schließen und die Entscheidung der zukünftigen Entwickelung zu überlassen.

1) Dort werden auch einige der unwesentlicheren Diskussionspunkte ihre Erledigung finden.

Literatur.

1) Citron, Jul., Die Immunisierung gegen Schweineseuche mit Hilfe von Bakterienextrakten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. 1905. p. 245 u. 248.)
2) Meyer, Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 2; Brieger u. Meyer, Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 27; Bassenge u. Meyer, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 18.
3) Centralbl. f. Bakt. 1906. Beiheft zu Abt. I. Bd. XXXVIII. Referate.
   a) Pfeiffer, R., u. Scheller, R., Immunisierungsversuche an Tauben gegen Vibrio Metschnikoff. p. 15.
   b) Diskussion · Citron, p. 41 u. Ostertag, p. 45.
4) Citron, J., Ueber natürliche und künstliche Aggressine. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI. 1906. p. 232.)
5) Doerr, Ueber Aggressine. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 25.)
6) Bail, O., Morphologische Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. (Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 43.)

Ueber das Schicksal des Bakterienpräzipitinogens im Organismus.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien. Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von k. u. k. Regimentsarzt Dr. **Victor K. Russ.**

Die Wichtigkeit einer möglichst frühzeitigen bakteriologischen Diagnose bei typhösen Erkrankungen gibt noch immer Anlaß, nach Methoden zu suchen, die hierzu möglichst rasch zum Ziele führen.

Da die Gruber-Widalsche Reaktion nicht selten erst im späteren Verlaufe (2. Woche) auftritt, ja manchmal während der ganzen Krankheitsperiode negativ ausfällt, suchte man in dem kulturellen Nachweise der Typhusbacillen aus der Blutbahn des Patienten eine Bestätigung der klinischen Symptome, zumal die Erfahrung gelehrt hatte, daß auch schon in den ersten Krankheitstagen die spezifischen Erreger dort nachweisbar sind.

Immerhin ist diese Methode etwas kompliziert und ihre praktische Anwendung außerhalb dazu eingerichteter Laboratorien schwierig.

In jüngster Zeit erschien von Fornet[1]) eine Mitteilung über Untersuchungen, bei welchen die von Kraus entdeckten Bakterienpräzipitine zur Frühdiagnose für Typhus herangezogen werden.

Kraus hatte bekanntlich den Nachweis erbracht, daß in einem Gemenge von Filtraten einer Typhusbouillonkultur und einem Typhusimmunserum spezifische Niederschläge entstehen. Es wäre nun ja denkbar gewesen, daß möglicherweise auch im lebenden Organismus, in dessen Blute Typhusbacillen sich vermehren, solche Präzipitinogene vorhanden seien und man sie in vitro nachweisen könne.

Von dieser Ueberlegung ausgehend, suchte Fornet erst am Tiere ein in der Blutbahn kreisendes Präzipitinogen. Er injizierte einem Kaninchen $^1/_2$ Agarkultur von Typhusbacillen und entblutete das Tier nach 12 Stunden. Das so gewonnene „Infektionsserum", wie der Autor es benennt, sollte das Präzipitinogen enthalten, also gemischt mit einem Typhusimmunserum („Reaktionsserum" nach Fornet) spezifische Niederschläge geben.

Auf die Resultate dieser Versuche und deren Deutung soll weiter unten näher eingegangen werden.

Nun hatte Fornet Gelegenheit, mit 6 Patientenseris von typhusverdächtigen Kranken Experimente anzustellen, die zu dem Ergebnisse führten, daß darin präzipitable Substanz nachweisbar wäre. In allen Fällen konnte durch „kurz darauffolgende bakteriologische Blutuntersuchung" die klinische Diagnose bestätigt werden.

Anläßlich einer kleinen Typhusepidemie hatte ich Gelegenheit, eine Reihe von Patientenseris diesbezüglich zu prüfen. Das Material und die klinischen Daten verdanke ich dem liebenswürdigen Entgegenkommen der Herren k. u. k. Stabsarzt Dr. K. Franz und Regimentsarzt Dr. Doerr.

In der nachfolgenden Tabelle sind die Krankheitsdauer bis zur Untersuchung, der bakteriologische Nachweis der Typhusbacillen im

1) Fornet, Münch. med. Wochenschr. 1906.

Blute, der Ausfall der gleichzeitig angestellten Gruber-Widalschen Reaktion und der klinische Verlauf der Erkrankung kurz mitgeteilt.

Tabelle I.

No.	Name	Tag der Sp.-Aufnahme	Tag der Venenpunktion	Temp. an diesem Tage	Resultat der Blutkultur	Resultat der Gruber-Widalschen Reaktion	Verlauf des Falles
1	Mosič	22. IX.	8. X.	38,3°	negativ	positiv	mittelschwer
2	Stahl	22. IX.	24. IX.	40,0°	positiv	„	leicht
3	Coufal	23. IX.	26. IX.	39,5°	„	negativ	schwer
4	Schenz	23. IX.	26. IX.	38,0°	negativ	„	mittelschwer
5	Hendrick	23. IX.	26. IX.	39,4°	„	„	leicht
6	Antonzyk	24. IX.	30. IX.	37,9°	positiv	positiv	„
7	Stepan	25. IX.	26. IX.	39,8°	„	„	„
8	Schmidt	26. IX.	27. IX.	39,8°	„	„	„
9	Ramič	27. IX.	8. X.	38,9°	negativ	„	schwer
10	Traschler	28. IX.	29. IX.	39,2°	positiv	negativ	„
11	Konrad	28. IX.	2. X.	39,0°	„	positiv	mittelschwer
12	Fischer	29. IX.	2. X.	38,7°	„	„	leicht
13	Belka	1. X.	3. X.	38,0°	„	negativ	mittelschwer
14	Hlauschek	1. X.	2. X.	39,0°	„	positiv	„
15	Cetuarsky	1. X.	3. X.	39,5°	negativ	„	leicht
16	Tomaschek	4. X.	5. X.	39,2°	„	„	„
17	Havliček	4. X.	7. X.	40,2°	positiv	„	schwer
18	Viech	7. X.	10. X.	40,3°	„	negativ	„
19	Kozourek	8. X.	10. X.	38,1°	negativ	„	mittelschwer

Bei denjenigen Fällen, in welchen die Blutkultur und die Gruber-Widalsche Reaktion ein negatives Resultat ergaben, war aber der klinische Verlauf doch für Typhus abdominalis vollkommen typisch und überdies durch die Epidemiologie gesichert.

Die einzelnen Versuche wurden derart angestellt, daß von jedem Patientenserum 1 ccm mit der gleichen Menge eines hochwertigen Typhusimmunserums (Pferd „Gigant")[1]) versetzt und alle Proben auf 24 Stunden unter oftmaliger Kontrolle im Thermostaten bei 37° C belassen wurden; darnach folgte eine mehrere Tage währende Beobachtung bei Zimmertemperatur.

Die Einheitlichkeit des Versuchsergebnisses gestattet dessen kurze Erwähnung:

In keiner der Proben trat auch nur die geringste Spur einer Trübung oder gar Ausflockung auf. Zu jeder Beobachtungszeit waren sie stets ganz klar geblieben.

Dieses Resultat stimmte auch mit den schon früher im hiesigen Institute von Löwenstein und Porges angestellten Versuchen vollständig überein.

Kraus und Lipschütz haben bereits für das Vibriohämotoxin und Dönitz, Decroly und Ronse für das Diphtherietoxin nachgewiesen, daß die Antigene rasch aus der Blutbahn verschwinden und nur nach Einführung sehr großer Mengen in dem Organismus nachweisbar seien.

Es wäre also merkwürdig gewesen, wenn gerade bei typhösen Erkrankungen die Präzipitinogene im Blute durch längere Zeit und noch dazu in so großen Mengen vorhanden wären, daß man sie ohne Schwierigkeit in vitro nachweisen könne.

1) Diese Menge genügt, um in Bakterienfiltraten typische Niederschläge zu erzeugen.

Da über das Verschwinden der präzipitinogenen Substanz aus dem Organismus in der Literatur keine Angaben sich vorfinden, ging ich dieser Frage nach und stellte eine Reihe dementsprechender Versuche an.

Als Präzipitinogen enthaltendes Material diente mir bei allen Experimenten dasselbe Filtrat einer Typhusbouillonkultur, das, mit Typhusimmunserum („Gigant") versetzt, sehr deutliche Niederschläge gab.

Auswertung:

5 ccm Kulturfiltrat	+ 1 ccm Gigant	nach 24 Stunden	starker Niederschlag
3 „ „	+ 1 „ „	„ 24 „	„ „
1 „ „	+ 1 „ „	„ 24 „	deutlicher „
5 „ „	+ 1 „ Normal-Pferdeserum	„ 24 „	klar.

Ich ließ von dem Kulturfiltrate mittelgroßen Kaninchen (1500 bis 1800 g) verschiedene Quantitäten in die Jugularis einfließen, entblutete die Tiere nach verschiedenen Intervallen und prüfte die so gewonnenen Blutsera auf ihren Gehalt an Präzipitinogen derart, daß ich absteigende Mengen Serums mit je 1 ccm Gigantserum versetzte, die Proben dann 24 Stunden im Thermostaten bei 37° unter oftmaliger Kontrolle beließ, dann weitere 24—48 Stunden bei Zimmertemperatur beobachtete.

In allen Fällen, wo nach Ablauf dieser Zeit noch keine Präzipitation nachweisbar war, wurden jeder Probe je 5 ccm desselben Typhusbouillonkulturfiltrates zugesetzt, um sich zu überzeugen, daß die im Gigantserum enthaltenen Präzipitine noch tatsächlich ungebunden im ursprünglichen Gemenge vorhanden seien. Auch diese Proben standen erst durch 24 Stunden im Brutschranke, dann ebenso lange bei Zimmertemperatur unter steter Beobachtung.

Die genaueren Daten der Versuchsanordnung und der Resultate sind aus den nachfolgenden Tabellen zu entnehmen. Es bedarf wohl nicht ausdrücklicher Erwähnung, daß bei allen Experimenten vollkommen steril gearbeitet wurde.

Versuch No. I.

Kaninchen (1500 g) erhält 50 ccm Typhusfiltrat in die Jugularis injiziert (Einfließzeit 38 Minuten). $1^1/_2$ Stunden nach Beginn der Injektion Entblutung aus der Carotis.

Tabelle II.

Material	Resultat	Resultat nach Zusatz von 6 ccm Typhusfiltrat
5 ccm K.-S.[1]) + 1 ccm Gigant	klar	Trübung und flockiger Niederschlag
3 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.[2])	„	klar

Versuch No. II.

Kaninchen (1500 g) erhält 40 ccm Typhusfiltrat in die Jugularis injiziert (Einfließzeit 34 Minuten) und wird nachher sofort aus der Carotis entblutet.

1) K.-S. = Serum des injizierten Kaninchens.
2) N.-Pf.-S. = Normal-Pferdeserum.

Tabelle III.

Material	Resultat	Resultat nach Zusatz von 5 ccm Typhusfiltrat
5 ccm K.-S. + 1 ccm Gigant	klar	Trübung und flockiger Niederschlag
3 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	klar

Versuch No. III.

Kaninchen (1500 g) erhält 15 ccm Typhusfiltrat in die Jugularis injiziert (Einfließzeit 17 Minuten) und wird dann sofort aus der Carotis entblutet.

Tabelle IV.

Material	Resultat	Resultat nach Zusatz von 5 ccm Typhusfiltrat
5 ccm K.-S. + 1 ccm Gigant	klar	Trübung und flockiger Niederschlag
3 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	klar

Faßt man das Resultat dieser Versuche zusammen, so ergibt sich, daß selbst nach Einführung großer Mengen präzipitabler Substanz in die Blutbahn diese in kurzer Zeit daraus verschwindet und in vitro nicht mehr nachweisbar ist.

Es fragt sich nun, ob das Präzipitinogen durch die Einwirkung des Blutserums zerstört oder durch bestimmte Organe gebunden wird.

Der erstere Punkt ist durch die vorangehenden Versuche schon dahin erklärt, daß in einem Gemenge von Serum und Kulturfiltrat nach Zusatz des entsprechenden Immunserums trotzdem Präzipitation auftritt.

Zur Lösung der zweiten Frage wurden folgende Experimente angestellt:

Wie früher ließ ich Kaninchen verschiedene Mengen von Kulturfiltrat in die Jugularis einfließen, entblutete die Tiere nach bestimmtem Zeitraume und untersuchte nun außer dem Blutserum auch noch Milz, Leber, Niere auf deren Gehalt an Präzipitinogen. Dabei wurde derart verfahren, daß 1 g jedes Organes in je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und diese Emulsion durch 12 Stunden im Eiskasten aufbewahrt wurde. Dann versuchte ich durch kräftiges Zentrifugieren eine tunlichste Klärung der Flüssigkeit zu erreichen. Sowohl mit dem Blutserum wie mit den Organaufschwemmungen (in den Tabellen kurz mit dem Namen des Organes bezeichnet) wurden nun Versuchsreihen aufgestellt, deren weitere Behandlung und Beobachtung sich mit den früher angeführten deckten.

Versuch No. IV.

Kaninchen (1800 g) erhält 60 ccm Kulturfiltrat in die Jugularis injiziert (Einfließzeit 32 Minuten). $2^1/_2$ Stunden nach Beginn der Injektion Entblutung aus der Carotis.

Tabelle V.

Material	Resultat	Resultat nach Zusatz von 5 ccm Kulturfiltrat
5 ccm K.-S. + 1 ccm Gigant	unverändert	Trübung und flockiger Niederschlag
3 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
3 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	klar
5 „ Leber + 1 „ Gigant	„	flockiger Niederschlag
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	unverändert
5 „ Niere + 1 „ Gigant	„	flockiger Niederschlag
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	unverändert
5 „ Milz + 1 „ Gigant	„	„
1 „ „ + 1 „ „	„	„
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	„

Versuch No. V.

Kaninchen (1800 g) erhält 40 ccm Kulturfiltrat in die Jugularis injiziert (Einfließzeit 30 Minuten). $1^1/_2$ Stunden nach Beginn der Injektion Entblutung aus der Carotis, Entnahme der Organe, deren Verarbeitung genau so wie im vorigen Versuche durchgeführt wurde.

Tabelle VI.

Material	Resultat	Resultat nach Zusatz von 5 ccm Kulturfiltrat
5 ccm K.-S. + 1 ccm Gigant	unverändert	Trübung und flockiger Niederschlag
3 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „ „ „
5 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	klar
5 „ Leber + 1 „ Gigant	„	flockiger Niederschlag
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	unverändert
5 „ Niere + 1 „ Gigant	„	flockiger Niederschlag
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	unverändert
5 „ Milz + 1 „ Gigant	„	„
1 „ „ + 1 „ „	„	„
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	„

Auch aus diesen Versuchen geht hervor, daß weder im Serum noch in den Organen das Präzipitinogen nach kurzer Zeit mehr nachweisbar ist. Alle untersuchten Materialien mit Ausnahme der Milzemulsion gaben nach Zusatz von Kulturfiltrat deutliche Präzipitation, was auf ein Freibleiben des Präzipitins in den ursprünglichen Proben deutet.

Es erübrigte nun noch, zu untersuchen, wie normales Kaninchenserum und normale Organe sich dem Präzipitinogen gegenüber verhalten. Diesbezüglich wurden 2 Experimente als Kontrollen der eben erwähnten angestellt.

Versuch No. VI und VII.

Ein gesundes Kaninchen wird aus der Carotis entblutet und Milz, Leber und Niere entnommen. 1 g jedes Organes wird mit 10 ccm Kulturfiltrat verrieben, die Emulsion 1 Stunde im Thermostaten bei 37° belassen, dann bis zur tunlichsten Klärung zentrifugiert. Zur

folgenden Reihe muß bemerkt werden, daß den Serumproben hier gleich anfangs des Versuches je 5 ccm Kulturfiltrat zugesetzt wurden.

Bei Versuch VII blieben die Organemulsionen überdies noch 12 Stunden im Eisschranke stehen.

Tabelle VII.

Material	Versuch No. VI. Resultat	Versuch No. VII. Resultat
5 ccm K.-S. + 5 Filtr. + 1 Gigant	flockiger Niederschlag	flockiger Niederschlag
3 „ „ + 5 „ + 1 „	„ „	„ „
1 „ „ + 5 „ + 1 „	„ „	„ „
1 „ „ + 5 „ + 1 N.Pf.S.	klar	klar
5 ccm Leber + 1 ccm Gigant	unverändert	flockiger Niederschlag
1 „ „ + 1 „ „	„	„ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	unverändert
5 „ Niere + 1 „ Gigant	flockiger Niederschlag	Organsedimente
1 „ „ + 1 „ „	„ „	„
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	unverändert	„
5 „ Milz + 1 „ Gigant	dichter flock. Niederschlag	dichter flock. Niederschlag
1 „ „ + 1 „ „	„ „ „	„ „ „
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	unverändert	unverändert

Normale Organe und Blutserum von Kaninchen hemmen also den Ausfall der Präzipitate nicht; ebenso verhält sich normales Menschenserum, wie aus der folgenden Tabelle VIII ersichtlich ist:

Tabelle VIII.

Material	Resultat
5 ccm N.-M.-S.[1]) + 5 ccm K.-F.[2]) + 1 ccm Gigant	Trübung u. flock. Niederschl.
3 „ „ + 5 „ „ + 1 „ „	„ „ „ „
1 „ „ + 5 „ „ + 1 „ „	„ „ „ „
5 „ „ + 5 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	klar

Bei den Versuchen No. IV und V war auffallend, daß die Emulsion der Milz von Kaninchen, denen Kulturfiltrat in größeren Mengen injiziert worden war, nach weiterem Zusatz von 5 ccm Filtrat in keiner Probe Präzipitation ergab, während Aufschwemmungen normaler Milz mit Filtrat nach Mischung mit Immunserum (No. VI und VII) deutliche spezifische Niederschläge erkennen ließen.

Kehren wir nun zu den ersten Versuchen von Fornet an Kaninchen zurück.

Die Angaben, welche der Autor in der Tabelle anführt, erscheinen an und für sich ziemlich ungenau und undeutlich.

Es ist allerdings schon bekannt, daß auch Gemenge normaler Sera von verschiedenen Tieren, wie auch Immunsera mit normalem derselben Tierspecies Niederschläge liefern; doch eine Flockenbildung in einer Mischung zweier gleichartiger normaler Sera, wie in diesem Falle Kaninchen-Normalserum I und II, kann wohl nur auf Verunreinigungen durch Bakterien zurückgeführt werden, durch deren weiteres Wachstum sie dann vorgetäuscht wurde.

Da ich bei den früheren Versuchen die Wahrnehmung gemacht hatte, daß in die Blutbahn eingeführtes Präzipitinogen rasch aus derselben verschwinde, war es mir auch nicht verständlich, wie man dasselbe

1) N.-M.-S. = Normal-Menschenserum.
2) K.-F. = Kulturfiltrat.

durch Injektion von Bakterienleibern im lebenden Organismus erhalten solle.

Zur Nachprüfung der Angaben Fornets stellte ich dem seinigen analoge Versuche an.

Ein Kaninchen erhält $^1/_2$ Typhusschrägagarkultur (20 Stunden alt) intravenös injiziert. Nach 10 Stunden wird das Tier entblutet, das Serum durch Absetzenlassen oder Zentrifugieren vom Blutkuchen getrennt und nun eine aus nachfolgender Tabelle (dortselbst sind auch die Resultate zu ersehen) ersichtliche Serie von Proben aufgestellt.

Tabelle IX.

Material	Resultat nach 6 Stunden bei 37°
0,5 ccm K.-S.[1]) + 0,5 ccm Gigant	Zarte Trübung und feinster flock. Niederschlag
0,5 „ „ + 0.5 „ N.-Pf.-S.	„ „ „ „ „ „
0,5 „ „ + 0,5 „ N.-K.-S.[2])	„ „ „ „ „ „
0,5 „ Gigant + 0,5 „ N.-Pf.-S.	klar
0,5: „ N.-K.-S. + 0,5 „ Gigant	„

Nach Ablauf der 6-stündigen Beobachtungszeit bei 37° wurden alle Röhrchen zentrifugiert und der Bodensatz sowohl im Deckglastrockenpräparat, als auch kulturell auf Drigalski-Conradischen Lackmuslaktoseagarplatten untersucht.

In den Präparaten zeigte sich das typische Bild der Agglutination; die Stäbchen lagen in festen Häufchen zusammengeklebt. Auf den Plattenkulturen waren nach 24 Stunden im Thermostaten unzählige Typhuskolonieen aufgegangen.

Da ja bekannt ist, daß die Eberth-Gaffkyschen Bacillen im Blute der Patienten schon bald nach Ausbruch der Erkrankung und auch bei experimenteller Infektion im Gefäßsystem der injizierten Tiere durch längere Zeit nachweisbar sind, konnte das obenerwähnte Versuchsresultat nicht wunder nehmen. Obendrein hatte ich mit 0,1 ccm des „Infektionsserums“ eine Zählplatte angelegt, auf der nach 24 Stunden Wachstum ca. 40000 Kolonieen aufgingen; es waren also in dem Gemenge von 0,5 ccm Infektionsserum und 0,5 ccm Gigantserum (resp. Normal-Pferde- und Normal-Kaninchenserum) ca. 200000 Keime enthalten. Durch den 6-stündigen Aufenthalt im Thermostaten müssen sich die Mikroorganismen so beträchtlich vermehren, daß deren Agglutination schon makroskopisch zur Ansicht kommen kann.

Es muß noch erwähnt werden, daß die Ausflockung in den Röhrchen, denen Normal-Pferde- und Normal-Kaninchenserum zugefügt war, keine auffallende Erscheinung ist, da ja bekanntlich auch Normalsera in stärkeren Konzentrationen agglutinierend wirken können.

Durch diesen Versuch scheint nun erwiesen, daß die von Fornet als Präzipitation bezeichnete Ausflockung wahrscheinlich nur eine Zusammenballung von Bakterien gewesen sein dürfte, die im Blute kreisten.

Injiziert man einem Kaninchen geringere Mengen von Bakterien, ca. $^1/_4$ oder gar nur $^1/_{10}$ einer nicht mehr als 8 Stunden alten Typhuskultur auf schrägem Agar, so kann man eine Ausflockung nicht wahrnehmen, wenn auch durch das Kulturverfahren das Vorhandensein von

1) K.-S. = Serum des injizierten Kaninchens.
2) N.-K.-S. = Normales Kaninchenserum.

Mikroorganismen im Serum, allerdings in geringerer Zahl (ca. 2000—5000 in 0,1 ccm), nachweisbar ist.

Drei diesbezügliche Versuche sollen kurz erwähnt werden:

1) Kaninchen No. 349 erhält $^1/_2$ Agarkultur (8 Stunden) intravenös; 14 Stunden nach der Injektion wird das Tier entblutet.

In 0,1 ccm Serum sind ca. 4500 Bacillen enthalten (Zählplatte). Die hier angestellte Versuchsreihe entspricht der im vorangehenden Experimente. Nach 4-stündigem Aufenthalte der Proben im Thermostaten sind alle Röhrchen klar geblieben.

2) Kaninchen No. 41 erhält $^1/_4$ Agarkultur (8 Stunden) intravenös; 14 Stunden nach der Injektion wird das Tier entblutet.

In 0,1 ccm Serum sind ca. 1500 Bacillen nachweisbar (Zählplatte). Bei gleicher Anordnung und Beobachtungszeit dasselbe Resultat.

3) Kaninchen No. 269 erhält $^1/_{10}$ Agarkultur (8 Stunden) und wird 20 Stunden später entblutet. 0,1 ccm Serum enthält ca. 500 Bacillen. Auch bei dieser Versuchsreihe konnte in keiner der Proben nur die geringste Ausflockung beobachtet werden.

Um schließlich selbst Spuren von Präzipitinogen im Blutserum eines mit Typhusbacillen vorbehandelten Tieres nachweisen zu können, wurden je 10 ccm der Sera von Kaninchen No. 349 u. 269 in analoger Weise wie Bouillonkulturfiltrate karbolisiert (0,5 Proz.), durch Papier filtriert und nun eine aus Tabelle X ersichtliche Versuchsreihe aufgestellt.

Tabelle X.

Material No. 349	Resultat	Material No. 269	Resultat
5 ccm K.-S. + 1 ccm Gigant	klar	5 ccm K.-S. + 1 ccm Gigant	klar
3 „ „ + 1 „ „	„	3 „ „ + 1 „ „	„
1 „ „ + 1 „ „	„	1 „ „ + 1 „ „	„
1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„	1 „ „ + 1 „ N.-Pf.-S.	„

Nach einer Beobachtung durch 24 Stunden konnten die oben angeführten Resultate festgestellt werden.

Hinzufügung von je 5 ccm Kulturfiltrat zu jeder Probe ließ nun wieder deutliche Präzipitation in allen Röhrchen mit Immunserum erkennen.

Wenn also in so großen Quantitäten des „Infektionsserums“ kein Präzipitinogen nachweisbar ist, kann in den kleinen Mengen, wie sie Fornet angewendet hat, die „Körnung“ und der „landkartenförmig begrenzte Niederschlag“ wohl nicht auf Präzipitation zurückgeführt werden.

Durch die angeführten Untersuchungen darf es wohl als sichergestellt betrachtet werden, daß weder in der Blutbahn eines infizierten Tierkörpers noch im Serum eines erkrankten menschlichen Organismus Bakterienpräzipitinogen nachgewiesen werden kann.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss des Gefrierens der Typhuskulturen auf Agglutination, Immunisation und die Variationen ihrer Virulenz.

[Hygienisches Institut der königlichen Universität zu Neapel (Direktor: Prof. V. De Giaxa).]

Von Dr. **Salvatore Perrone.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Viele Untersucher haben den Einfluß der niederen Temperaturen auf die Vitalität, Vermehrung und Virulenz der hauptsächlichen saprophytischen und pathogenen Bakterien mit besonderer Berücksichtigung des Typhusbacillus studiert, indem sie die betreffenden Kulturen Temperaturen unter 0° aussetzten.

So fand Prudden (1), daß der Typhusbacillus, während einige Saprophyten, die niederen Temperaturen ausgesetzt waren, ihre Vitalität verlieren, besseren Widerstand leistet, auch wenn er über 3 Monate lang dauernd Temperaturen von —1 bis —11° C ausgesetzt war, daß er aber in 3 Tagen vollkommen vernichtet wird, wenn man 5mal das Gefrieren mit Auftauen abwechseln läßt.

Chantemesse und Widal berichten, daß sie Typhusbacillenkulturen im Winter 1886—1887 der Wirkung des Frostes ausgesetzt haben, ohne daß es ihnen gelang, sie zu zerstören.

Bellings (2) fand, daß die Typhusbacillen nicht vollkommen zerstört wurden, wenn er das Wasser, in dem sie enthalten waren, während einer Nacht gefrieren ließ.

Baskenon (3) setzte 13 Tage lang Röhrchen mit Typhusbouillonkulturen einer Temperatur von —8 bis —15° C aus, brachte sie darauf wieder in eine gewöhnliche Temperatur und konnte dann beobachten, daß ihre Entwickelung sich in der gewöhnlichen Weise vollzog.

Janowski (4) zeigte, daß die Typhusbacillen auch unter gewöhnlichen Bedingungen die Fähigkeit besitzen, lange Zeit hindurch die Wirkung des Gefrierens zu ertragen, und daß außerdem die niedere Temperatur unter denjenigen Bedingungen, unter denen sie in natürlicher Weise vorkommt, auf ihre vitalen Funktionen einen schädlichen Einfluß ausübt und meistens die vollkommene Zerstörung der Bacillen herbeiführen kann.

Montefusco (5), der sich in diesem Institut mit dem Einfluß der Kälte auf Cholera- und Typhusbacillen beschäftigte, fand hierbei, daß der erstere durch eine Temperatur von —10 bis —15° C in einer halben Stunde zerstört wird, während eine Temperatur von 0 bis —5° C ihn nur abschwächt. Die durch das Gefrieren abgeschwächten Cholerakulturen erlangen ihre Virulenz wieder, wenn man sie erneuert und in eine Temperatur von 37° gebracht hat. Die niederen Temperaturen haben keine Wirkung auf die Produkte der Choleravibrionen; Meerschweinchen, welche auf dem Wege durch den Magen mit Kulturen, die man dem Gefrieren ausgesetzt hat, geimpft sind, sind wenigstens zeitweise gegen die Cholerainfektion und gegen die toxische Wirkung der Kulturen immun gemacht.

Hinsichtlich der Wirkung des Gefrierens auf die Typhusbacillenkulturen kam er zu folgenden Schlüssen: 1) Die niederen Temperaturen (von —15° bei 6-stündiger Dauer) haben auch bei Abwechselung mit einer Brutofentemperatur von 37° keinen Einfluß auf die Vitalität des Typhusbacillus. Nur während der Zeit ihrer Einwirkung sind sie im stande, seine Vermehrung zu verhindern. 2) Auch wenn der Typhusbacillus im Wasser und in den Faeces enthalten ist, wird seine Virulenz in keiner Weise durch die niederen Temperaturen (von —10 bis —15° C bei 4- bis 6-stündiger Dauer) verändert, selbst wenn man die niederen Temperaturen mit einer Brutschranktemperatur von 37° abwechseln läßt.

Walter Brehm (6) fand, daß Typhusbacillenkulturen in größeren Mengen dem Gefrieren besseren Widerstand leisten, als wie in kleinen Quantitäten, und daß ferner zwischen den verschiedenen Species des Bakteriums kein Unterschied in ihrem Verhalten besteht. Er fand endlich, daß der Typhusbacillus sich bei —16° C 140 Tage lang lebensfähig erhält.

Und endlich beschäftigten sich Gage und Stephen und F. Erwing und B. Swingle-Deanc (U. S. Department of Agriculture) (7) mit dem Prozentsatz von Bakterien, welche infolge des Gefrierens sterben.

In der Literatur existiert nun keine Arbeit über die Möglichkeit, Tiere mittels Kulturen, die man dem Gefrieren ausgesetzt hat, zu immunisieren; aus diesem Grunde habe ich diese Frage an Typhuskulturen studieren wollen, indem ich sie eine lange Zeit hindurch Temperaturen unter 0° aussetzte. In dem zweiten Teile meiner Arbeit beabsichtige ich auch die eventuellen Veränderungen der Virulenz zu studieren, welche die gefrorenen Kulturen desselben Bakteriums erlitten hatten, und zwar indem ich sie entweder sofort nach dem Auftauen oder erst eine gewisse Zeit später verimpfte.

Folgendes ist in großen Zügen die Technik, die bei dem Immunisierungsprozesse angewandt wurde.

Ich stellte zwei Reihen von je 4 Kaninchen auf, deren Körpergewicht pro Tier ungefähr 2 kg betrug, und immunisierte die eine Reihe mit gefrorenen, die andere mit gewöhnlichen Typhuskulturen.

Ich stellte Bouillonkulturen in einem einzigen Glaskolben her, in dem ich diesen mit einer bestimmten Bakterienmenge impfte. Nach 24-stündiger Entwickelung bei 37° C entnahm ich nach vorheriger Mischung der ganzen Masse mit einer sterilen Pipette die notwendige Menge und übertrug sie in 2 sterile Röhrchen. Von diesen wurde eins bei der gewöhnlichen Temperatur der Umgebung gehalten, während das andere dem Gefrieren in einem geeigneten Apparate 12 Stunden lang ausgesetzt wurde; letzterer hatte doppelte Wände, deren Zwischenraum mit Sägespänen angefüllt war, und besaß an seinem Boden ein Loch, um das Schmelzwasser abfließen zu lassen. Durch Herstellung eines Gemisches aus zwei Teilen zerbröckelter Schneemasse und einem Teil Kochsalz erhielt ich zwischen —15 und —17° C schwankende Temperaturen, die durch ein am Apparate angebrachtes Thermometer gemessen wurden. Während der ganzen Dauer des Gefrierens beobachtete ich von Zeit zu Zeit das Thermometer und setzte je nach Bedarf wieder etwas von der Kältemischung hinzu.

Noch ehe die aus dem Gefrierapparate entnommene Kultur die Temperatur der Umgebung angenommen hatte, injizierte ich sie auf endovenösem Wege der einen Reihe der Kaninchen, während die

Kaninchen der anderen Reihe auf demselben Wege mit der einfachen Kultur des anderen Röhrchens geimpft wurden.

Während des Immunisierungsprozesses betrug die kleinste tödliche Dosis (D. L. M.) der Typhuskulturprobe 0,10 ccm pro 100 g Meerschweinchen, eine Virulenz, welche ich fast immer in demselben Grade mittels Passagen durch Meerschweinchen erhielt. Bei der ersten Inokulation wurden jedem Tiere 0,03 ccm Kultur injiziert, eine Dosis, welche bei den vorher zur Probe injizierten Kaninchen keine nennenswerte Reaktion verursachte. Ich vergrößerte die Menge der eingeimpften Kultur immer mehr, bis ich schließlich bei der letzten Inokulation eine Quantität von 6 ccm anwandte.

Schon nach der vierten Behandlung zeigten alle Tiere eine merkliche Abnahme des Körpergewichtes und ein Sinken der Temperatur um 1 oder 2°. Diese Erscheinungen gingen jedoch allmählich zurück und verschwanden bei der mit einfachen Kulturen behandelten Serie nach 4 oder 5 Tagen vollkommen, während bei der anderen Serie die allgemeine Reaktion und die Gewichtsabnahme der Tiere beträchtlicher waren und die Kaninchen einen längeren Zeitraum nötig hatten, um zu ihrem ursprünglichen Zustande wieder zurückzukehren und die folgende Inokulation zu erlauben. Der Zwischenraum zwischen zwei Infektionen betrug gewöhnlich 10—15 Tage.

Während des Immunisierungsprozesses untersuchte ich den Agglutinationswert des Blutserums der Tiere aller beider Serien und will auf der folgenden Tabelle den Durchschnitt von 4 Versuchen angeben, die ich nacheinander in kurzen Zwischenräumen angestellt habe.

Mit einfachen Kulturen behandelte Serie		Mit gefrorenen Kulturen behandelte Serie	
1. Kaninchen	1:4500	1. Kaninchen	1:6500
2. „	1:4000	2. „	1:7000
3. „	1:4500	3. „	1:7500
4. „	1:4000	4. „	1:7000

Aus den obigen Zahlen sieht man, daß das Blutserum der mit gefrorenen Kulturen behandelten Kaninchen einen höheren Agglutinationswert zeigt, als das Serum der Kontrollkaninchen.

Ich untersuchte also bei den Kaninchen aller beider Serien die gegen die Typhuskulturprobe erworbene Immunität, indem ich zunächst bei den Kaninchen die kleinste tödliche Dosis bestimmte, welche 0,40 pro 100 g Körpergewicht betrug, dann impfte ich alle Tiere intraperitoneal und gleichzeitig zwei andere neue Kaninchen zur Kontrolle. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Prozentuale Mengen von injiz. Kultur	Einfache D. L. M.	Zweifache D. L. M.	Dreifache D. L. M.	Fünffache D. L. M.
Kontrolltier	+ tot	+ tot		
Mit einfachen Kulturen behandelte Serie	— lebt	— lebt	— lebt	+ stirbt nach 36 Stunden
Mit gefrorenen Kulturen behandelte Serie	+ stirbt nach 2 Tagen	+ stirbt	+ stirbt	+ stirbt

Die Autopsie der Tiere ergab ein positives Resultat und man erhielt aus dem Blute Reinkulturen in Agar und Bouillon. Man sieht also, daß die gefrorenen Kulturen ihre vaccinierende Wirkung verlieren, ob-

gleich sich im Blute der behandelten Tiere die agglutinierenden Substanzen im Uebermaße finden. Das kein direktes Verhältnis zwischen der Menge der Agglutinine und dem Grade der erworbenen Immunität bei den untersuchten Tieren besteht, ist eine Tatsache, die übrigens schon von mehreren Untersuchern unter anderen Umständen beobachtet worden ist; sie wird noch einmal durch die vorliegenden Untersuchungen bewiesen, wenn auch der Grund noch nicht genügend klargestellt ist, weshalb sich unter demselben Reize im Organismus die beiden agglutinierenden und immunisierenden Substanzen in verschiedener Weise bilden.

Die bei diesem Versuche erhaltenen Resultate schienen mir von einer gewissen Wichtigkeit zu sein und haben mich daher zur Wiederholung des Versuchs ermutigt, um die Konstanz der beobachteten Erscheinungen festzustellen.

Ich habe zwei Reihen von je 5 Kaninchen in der oben beschriebenen Weise behandelt und am Schlusse der Impfungen habe ich das Agglutinationsvermögen des Blutserums der behandelten Kaninchen untersucht und zu gleicher Zeit auch die Präzipitine, indem ich Typhusbouillonkulturen nach 48-stündiger Entwickelung bei 37° benutzte, die durch eine Porzellankerze filtriert waren.

Auf der folgenden Tabelle finden sich die Resultate:

Mit einfachen Kulturen behandelte Serie			Mit gefrorenen Kulturen behandelte Serie		
	Agglutinine	Präzipitine		Agglutinine	Präzipitine
1. Kaninchen	1:5500	1:30	1. Kaninchen	1:7500	1:10
2. "	1:5000	1:50	2. "	1:8000	1:10
3. "	1:4500	1:50	3. "	1:8000	Nicht
4. "	1:4000	1:30	4. "	1:6500	nennenswerte
5. "	1:5500	1:50	5. "	1:7000	Mengen

Aus der obigen Tabelle geht hervor, daß auch bei der zweiten Versuchsreihe das Blutserum der mit gefrorenen Kulturen geimpften Kaninchen auf den Typhusbacillus eine stärkere agglutinierende Wirkung ausübt als das Serum der betreffenden Kontrolltiere. Andererseits muß man ausschließen, daß diese Erscheinung durch die Bildung einer größeren Menge von Präzipitinen bedingt sein kann, die sich im Blute der mit gefrorenen Kulturen behandelten Tiere für die eiweißhaltige infolge der Filtration keimfreie Flüssigkeit der Kulturen gebildet haben, weil aus dem Experimente selbst hervorgeht, daß die Menge der im Blutserum der Kaninchen beider Serien gebildeten Präzipitine durch ihre präzipitierende Wirkung nicht die Verschiedenheit des Verhaltens erklären kann; denn sie ist im Blutserum der mit einfachen Kulturen behandelten Kaninchen größer als im Serum der Kaninchen der anderen Serie.

Nachdem ich das Agglutinationsvermögen untersucht hatte, untersuchte ich die Immunität, welche die Tiere beider Serien gegen die Typhuskultur erworben hatten.

Die Impfungen wurden wie in dem vorhergehenden Versuche intraperitoneal vorgenommen und zusammen mit den präparierten Tieren wurden auch zwei andere Kaninchen zur Kontrolle geimpft. Die kleinste tödliche Dosis wurde zu 0,35 g : 100 g Körpergewicht des Kaninchens festgesetzt.

Auf folgender Tabelle gebe ich die Resultate wieder:

Prozentuale Mengen von injiz. Kultur	Einfache D. L. M.	Zweifache D. L. M.	Vierfache D. L. M.	Fünffache D. L. M.	Achtfache D. L. M.
Kontrolltier	+ tot	+ tot			
Mit einfachen Kulturen behandelte Serie	— lebt	— lebt	— lebt	+ stirbt nach 48 Stunden	+ tot
Mit gefrorenen Kulturen behandelte Serie	— lebt	+ tot	+ tot	+ tot	+ tot

Bei allen gestorbenen Tieren liefert die Autopsie ein positives Ergebnis, da ich mit aus dem Blute stammendem Material in Agar und Bouillon Reinkulturen erhalten habe.

Nach Erledigung des ersten Teiles meiner Versuche habe ich untersucht, welchen Veränderungen die Virulenz der gefrorenen Typhuskulturen unterliegen kann, und bin zu diesem Zwecke in folgender Weise verfahren.

Zwei Serien von Meerschweinchen zu je 5 Stück, von denen jedes ein Körpergewicht von 250 g hatte, wurden intraperitoneal geimpft; der einen wurden Typhuskulturen injiziert, die man 12 Stunden lang bei —15 bis —17° hatte gefrieren lassen, und die nach ihrer Herausnahme aus dem Gefrierapparate noch nicht die Temperatur ihrer Umgebung angenommen hatten; die andere Serie wurde mit gewöhnlichen Kulturen geimpft.

Ich wiederholte den Versuch an zwei anderen ebenso großen Serien, deren Tiere fast dasselbe Körpergewicht wie die früheren hatten. Der einen Serie injizierte ich auf demselben Wege die gefrorenen Kulturen 12 Stunden nach ihrer Herausnahme aus dem Gefrierapparat; die andere Serie impfte ich mit einfachen Kulturen. Auch für diese Versuche stellte ich die Kulturen in einem einzigen Kolben in der bei der Immunisierung der Kaninchen beschriebenen Weise her. Die Resultate finden sich in den vorstehenden Tabellen:

Prozentuale Mengen von injiz. Kultur	0,10 ccm	0,15 ccm	0,20 ccm	0,30 ccm	0,40 ccm
Kontrolltier	— lebt	+ tot	+ tot	+ tot	+ tot
Serie, injiz. mit gefrorenen Kulturen sofort nach ihrem Auftauen	— lebt	— lebt	— lebt	— lebt	— tot

Prozentuale Mengen von injiz. Kultur	0,10 ccm	0,15 ccm	0,20 ccm	0,30 ccm	0,40 ccm
Kontrollserie	— lebt	+ stirbt nach 48 Stunden	+ tot	+ tot	+ tot
Serie, behandelt mit gefrorenen Kulturen 12 Stunden nach ihrem Auftauen	— lebt	+ tot	+ tot	+ tot	+ tot

Die Autopsie lieferte ein positives Resultat; ich erhielt bei Impfungen aus dem Blute Reinkulturen.

Betrachtet man nun das Ergebnis meiner Versuche über den Einfluß, den die gefrorenen Kulturen auf die Produktion von immunisierenden und agglutinierenden Substanzen ausüben, und andererseits die Abnahme der Virulenz der gefrorenen gleich nach ihrem Auftauen injizierten Kulturen im Vergleiche zu den entsprechenden Kontrollkulturen, so muß meiner Meinung nach ein Zusammenhang zwischen diesen beiden experimentell erhaltenen Tatsachen bestehen, und ferner muß die Wirkung, welche das Gefrieren auf die Typhusbacillenkulturen ausübt, im stande sein, nicht nur ihre Virulenz abzuschwächen, sondern sie muß auch die Fähigkeit vernichten können, den tierischen Organismus zur Produktion von immunisierenden Substanzen anzuregen, wenn sie auch fortwährend die Bildung viel größerer Mengen von Agglutinin veranlaßt, als es sonst im Blute der mit einfachen Kulturen immunisierten Tiere der Fall ist. Wie die Kulturen nach ihrem Gefrieren ihre ursprüngliche Virulenz wiedergewinnen, dafür kann ich keine bestimmte Erklärung geben. Meiner Meinung nach könnte dies durch die Bildung von neuen Elementen in den nach ihrem Gefrieren in günstige Temperaturbedingungen gebrachten Kulturen oder durch den Umstand bedingt sein, daß die Keime, die sich durch das Gefrieren in ungünstigen Lebensbedingungen befanden, ihre ursprünglichen, durch die Kälte gelähmten pathogenen Fähigkeiten wiedergewinnen, noch bevor sie den Kampf mit den Schutzmitteln des Körpers aufgenommen haben.

Kurz zusammengefaßt, lautet das Ergebnis meiner Untersuchungen folgendermaßen:

1) Typhuskulturen, welche man 12 Stunden lang bei —15 bis —17° C hat gefrieren lassen, verleihen gar keine Immunität, während das Blutserum der behandelten Tiere ein beträchtliches Agglutinationsvermögen der Typhuskultur gegenüber besitzt, und zwar in viel höherem Maße, als das Blutserum der entsprechenden Kontrolltiere.

2) Die Typhuskulturen, welche während derselben Zeit derselben Temperatur ausgesetzt sind, erweisen sich als beträchtlich abgeschwächt; läßt man sie aber nach dem Gefrieren 12 Stunden lang in der Temperatur der Umgebung, so gewinnen sie ihre ursprünglichen pathogenen Eigenschaften wieder.

Neapel, Oktober 1906.

Literatur.

1) Prudden, On bacteria in ice and there relations to disease. (The medical Record. Vol. XXXI. 1887.)
2) Bellings, Sanitary Engineer. 1887.
3) Baskenon. Sanitary Engineer. 1887.
4) Janowski, Zur Biologie der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. p. 449.)
5) Montefusco, Wirkung der niederen Temperaturen auf die Virulenz der Choleravibrionen. (Annali dell' Istituto d'Igiene sperimentale dell' Univers. di Roma. — Beitrag zur Biologie des Typhusbacillus. (Sonderabdruck aus der Riforma medica. 1893. No. 155.)
6) Brehm, Walter, Ueber die Widerstandsfähigkeit der Choleravibrionen und Typhusbacillen gegen niedere Temperaturen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XL. Heft 4.)
7) Gage und Stephen, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. p. 279.

Präzipitin-Reaktion als diagnostisches Mittel der Tuberkulose und zur Differenzierung zwischen Menschen- und Rindertuberkulose.

[Pathologisch-anatomisches Institut der Königl. Universität Padua (Vorstand: Prof. A. Bonome).]

Von Prof. Dr. **A. Bonome.**

Die spezifisch präzipitierenden Eigenschaften einiger Immunsera, die durch künstliche Einführung von Blut- oder Preßsäften in verschiedene Tiere (durch intraperitoneale, subkutane, intravenöse Einspritzungen) erzielt wurden, waren in den letzten Jahren Gegenstand dauernder Studien zahlreicher Forscher. Hauptsächlich durch Bordet (1) und Tschistovitsch (2) wurde die Herstellung der Eiweißkörper-Präzipitine aufgefunden, während Uhlenhuth (3, 5), Wassermann und Schütze (4) das Verdienst gebührt, die Spezifität dieser präzipitierenden Reaktion dargetan zu haben, so daß diese Spezifität in der forensischen Praxis zur Darstellung der Bluteiweißkörper angewandt werden konnte.

Andere Aussichten auf nützliche Anwendung dieser Präzipitinmethode schienen in der Möglichkeit zu liegen, die Differenzierung zwischen den verschiedenen Eiweißkörpern zu ermöglichen, welche die Chemie bis jetzt noch nicht zu trennen vermag. Diese Feststellungen aber scheitern an dem Umstand, daß solche Eiweißkörper, wenn derselben Tierart entstammend, keine bestimmte Präzipitinreaktion mehr zu geben im stande sind.

Die Anwendung der spezifischen Absättigung hat dessenungeachtet das Ziel erreicht, in einigen Fällen die Differenzierung zwischen verschiedenen Eiweißkörpern zu ermöglichen, wie z. B. die Globuline vom eigentlichen Eiweiß zu unterscheiden, wenn auch beide ein und demselben Tiere angehören.

Diese Absättigungsmethode, die in der Technik der Hämolysine von Ehrlich und Morgenroth (6) seit 1901 zur Darstellung der mehrfachen Komplemente eingeführt wurde, war in größerem Maßstab von Kister und Weichard (7), von Ascoli (8), Ide (9) und Michaelis angewendet worden.

Wie bekannt, besteht diese Methode darin, daß man einem Immunserum, welches z. B. auf zwei verschiedene Eiweißkörper (Globulin und Albumin) gleichzeitig wirkt, durch übermäßigen Zusatz einer jeden dieser einzelnen Substanzen zum Immunserum und durch darauf folgende Zentrifugierungen zur Entfernung des Niederschlags, alle Immunkörper entziehen kann, welche die bestimmten, zur Absättigung angewandten Eiweißkörper banden. Nur auf die andere Eiweißart zeigt das so reduzierte Immunserum seine Wirkung, und diese scheint verstärkt zu sein. Die Erklärung dieses Phänomens ist schwierig, jedoch will man heute annehmen, die differenten Eiweißkörper in einer und derselben Tiergattung besäßen einige verschiedene Rezeptoren, die teilweise wirklich spezifisch und teilweise gemeinsam sind. Sowohl die eine wie die andere dieser beiden Rezeptorenarten können an der Präzipitin-

reaktion teilnehmen. Mit der Absättigungsmethode kann man nun die eine Rezeptorenart binden, während die andere frei bleibt, d. h. noch Präzipitine zu bilden im stande ist.

Eine andere interessante Anwendung der Präzipitinmethode zwecks des Studiums der verschiedenen, die Gewebe der tierischen Organe bildenden Eiweißkörperarten, betrifft die sogenannte regionäre Spezifität, welche in dem Erzeugungsmechanismus der Cytotoxine hauptsächlich zu Tage tritt. Diese regionäre oder Gewebsspezifität wurde auch mit der biologischen Methode der spezifischen Präzipitine, d. h. durch Absättigung isolierter Präzipitine, bewiesen. So ist es Liepmann (13, 14) gelungen, durch Einspritzungen von Placentaemulsionen bei Tieren ein spezifisch auf menschliche Placenta wirkendes Immunserum zu erlangen. Auf gleiche Weise konnte Uhlenhuth (15) Linseneiweiß von Glaskörpereiweiß, Eiklar von Dottereiweiß und Pfeiffer (16) Spermatozoeneiweiß von Blutserum unterscheiden. Ganz kürzlich erhielten Frossner (17) und Grund (18) durch Einspritzung von Organsäften (Niere, Leber, Milz und Magenschleimhaut) mit der Absättigungsmethode spezifische Immunsera, welche Eiweißkörper der Nierensäfte von denjenigen der Lebersäfte, der Milzsäfte und des Blutserums zu unterscheiden erlaubten.

Zeigen diese Studien auch eine verschiedene biologische Zusammensetzung der Eiweißkörper in den verschiedenen Organen, und zwar nicht nur unter sich, sondern auch gegenüber den Bluteiweißkörpern, welche in Berührung mit den Zellprotoplasmen Veränderungen eingehen müssen, so ist es trotzdem noch nicht gelungen, eine gewisse praktische Verwendbarkeit derselben im Gebiete der Pathologie zu erreichen, wie z. B. zur Diagnose der Krankheitsprozesse in einigen, eine äußere Sekretion besitzenden Drüsenorganen, in denen, wie in den Nieren, das Sekret eiweißhaltig wird.

In der Tat hat Grund vor kurzem gezeigt, daß die Präzipitinreaktionen, die man durch Behandlung des eiweißhaltigen Harns der an Nephritis erkrankten Menschen mit von mit Nierensaft behandelten Kaninchen herstammenden Immunseris erhält, nicht den wahren Charakter einer spezifischen Präzipitation besitzen, d. h. nicht derart wirken, daß man nach Absättigung mit Blutserumalbumin schließen könnte, das im Urin enthaltene Eiweiß stamme eher von den Nierenzellen her als vom Blute. Bei 4 eiweißhaltigen Urinen von an Nephritis parenchymatosa chronica leidenden Individuen konnte Grund tatsächlich sowohl durch Zusatz von Blutimmunserum als auch von Nierensaft-Immunserum eine präzipitierende Reaktion erhalten. Daß die Reaktion keine spezifische war, wird durch die Tatsache bewiesen, daß, während die Reaktion mit dem Blutimmunserum auch nach der Absättigung mit Nierenpreßsaft bestehen blieb, und ebenso bei Anwendung eines nicht mit Blutserum abgesättigten Nierenimmunserums, nach der Absättigung mit Blutserum eine Reaktion nicht mehr zu erzielen war. Das bedeutet, daß die Reaktion vom Eiweiß des Blutserums und nicht von den Nierenbestandteilen erzeugt wird.

Trotz des Versagens einer solchen Anwendung auf dem Gebiete der pathologischen Forschung besitzen die spezifischen Präzipitinreaktionen gegenüber den Eiweißstoffen doch immerhin eine sehr große biologische Bedeutung und besonders in der forensischen Praxis zur Darstellung des Blutalbumins von verschiedenen Tiergattungen.

Während das Studium und die praktische Verwendung der Eiweiß-

präzipitine weit vorgeschritten ist, kann man nicht dasselbe von den Bakterienpräzipitinen sagen.

Bekanntlich besitzt das Blut von Tieren, welche gegen pathogene Bakterien — die eher durch ihre Vermehrung (Septikämie) als durch Intoxikation wirken — immunisiert wurden, die Eigenschaft, die gleichen Bakterien zu agglutinieren und Niederschläge in ihren Extrakten zu erzeugen. Diese Bakterienpräzipitine sind jedoch bis jetzt nicht wie die Eiweißpräzipitine in ihren Varietäten und in ihrer Entstehungsweise untersucht worden. Während man also durch die agglutinierende Kraft eines spezifischen Serums Bakterien zu unterscheiden vermag, die große Aehnlichkeit unter sich, aber ätiologische Verschiedenheit besitzen, wie z. B. einige typhusähnliche und paratyphe Bacillen von den echten Typhusbacillen, wie auch einige Vibrionenarten, die dem Kochschen Choleravibrio ähneln, kann man nicht sagen, daß das Gleiche mit der Präzipitinmethode unternommen wurde.

Ich habe versucht, festzustellen, ob mit der Präzipitinmethode die Differenzierung der zwei von den meisten angenommenen Bacillenhaupttypen der Menschen- und der Rindertuberkulose erreicht werden kann. Als Immunsera benutzte ich Blutsera von tuberkulösen Menschen und Rindern, wie auch jene von Meerschweinchen und Kaninchen, die von mir sowohl mit von Rindern als auch vom Menschen herstammenden Tuberkeln infiziert wurden. Als präzipitable Substanz verwandte ich bei einigen Versuchstieren Plasmen, die durch feines Verreiben im Mörser unter Zusatz von Glassand aus frischen, vom Menschen und verschiedenen Tieren (Rind, Meerschweinchen, Kaninchen) herrührenden Tuberkeln bereitet und mit 5 Proz. Glycerin haltigem Wasser emulsioniert wurden. Das so erzielte Produkt wurde andauernd zentrifugiert und gleich darauf durch Berkefeldfilter filtriert. Nur wenn das Plasma durchaus klar erschien und sich andauernd so verhielt, unterließ ich das Filtern.

Mit diesem Verfahren gelang die Dosierung der präzipitablen Substanz oder des Plasma, in welches man die kleine Menge präzipitierenden Serums eintropfte, nicht leicht. Die Schwierigkeit der Dosierung entstand hauptsächlich durch die Unmöglichkeit des genauen Bestimmens, welche Menge des durch das Verreiben aus frischen Tuberkeln entstandenen Breies von der Glycerinwasserlösung extrahiert worden war. Zweifellos bestand eine mit Eiweißkörpern der Tuberkelzellen und mit proteischen Substanzen der Tuberkelbacillen gesättigte Lösung. Das ist anzunehmen, wenn man bedenkt, daß 3—4 ccm Brei mit 12—14 ccm Glycerinwasser verdünnt wurden. Die Mischung wurde oft geschüttelt und nach ein paar Stunden zentrifugiert.

Bei einer anderen Versuchsreihe wollte ich die Bereitung der präzipitablen Substanz modifizieren, indem ich nur die Körper der Tuberkelbacillen vom Menschen und vom Rind aus Reinkulturen verschiedenen Alters benützte, welche bei nicht mehr als 35° getrocknet waren. Diese durch 14 Tage im Wärmeschrank gehaltenen Kulturen wurden im Mörser mit feinstem, gut sterilisiertem Glassand stundenlang verrieben. Das feine daraus resultierende Pulver wurde in einer wässerigen Glycerinlösung (5-proz.) extrahiert und die Emulsion nach wiederholtem Schütteln zentrifugiert. Die ganz helle und wasserklare, staub- und bakterienfreie Flüssigkeit diente zu den Versuchen.

Ich verwendete also das Immunserum von an spontaner Tuberkulose leidenden Tieren (Mensch, Rind) oder von anderen von mir mit vom Menschen oder Rind herstammenden Tuberkelbacillen geimpften Tieren

(Meerschweinchen, Kaninchen). Das Quantum der präzipitierenden Substanz sollte man a priori für proportional zum mehr oder minder vorgeschrittenen Krankheitsgrade halten. Die Serumdosis wurde mit einer in Zehntelkubikcentimetern graduierten Pipette gemessen. Für Bruchteile unter dem Zehntel brauchte ich Verdünnungen des Serums mit sterilem Wasser, und aus der Zahl der Tropfen, die aus der exakt kalibrierten und in der gleichen Schrägstellung gehaltenen Pipette flossen, konnte man mit größter Genauigkeit das Verhältnis zwischen Immunserum und präzipitablen Substanzen feststellen. Was das Quantum der präzipitablen Substanz betraf, so wurde dasselbe, da es sich um meist sehr verdünnte Extrakte handelte, viel größer genommen, d. h. es schwankte zwischen 1—2 ccm, die in sehr kleine Eprouvetten verteilt waren. Sobald die Immunsera in die eben genannten Plasmaquanten eingetropft waren, wurden die Eprouvetten in den Thermostaten gestellt und während eines variablen Zeitraums von einer Viertelstunde bis 5—6 und mehr Stunden die Beobachtungen wiederholt.

In der ersten Versuchsreihe studierte ich die Wirkung der Sera von an spontaner Tuberkulose leidenden Menschen und Rindern auf Plasmen, die sowohl mit frischen, aus menschlichen Organen entnommenen Tuberkeln als auch mit solchen von kurz vorher geschlachteten Rindern bereitet waren.

Um auf synthetischem Wege und in Tabellenform die erreichten Resultate darzustellen und um sie auf den ersten Blick miteinander vergleichen zu können, habe ich folgende Zeichen verwendet: O bedeutet einen negativen Ausfall, d. h. das Beharren der Flüssigkeitssäule im ganz klaren Zustande durch 18—24 Stunden; mit Λ bezeichne ich eine sehr geringe und diffuse, kaum bei sehr starkem künstlichen Licht wahrnehmbare Trübung, mit + eine schwache, mit ++ eine deutlichere und raschere, in 15—30 Minuten eintretende, mit +++ eine stärkere, schnell zum Niederschlag neigende Trübung.

In dieser Serie wurden 11 Experimente mit relativen Kontrollen ausgeführt. Bei dreien von ihnen wurde auch die autopräzipitierende Wirkung des Blutserums von Meerschweinchen und Kaninchen auf von ihren eigenen Tuberkeln stammende Plasmen geprüft.

In der Bildung der Niederschläge beobachtete ich bei Wiederholung einiger Experimente manchmal kleine Differenzen, die, meines Erachtens, sowohl in Veränderungen im Gehalt an präzipitierenden Substanzen des Blutserums, als auch in kleinen Variationen der präzipitablen Substanzenmenge der verschiedenen Plasmen ihren Grund haben können. Diese geringen Verschiedenheiten stehen, was die präzipitablen Substanzen betrifft, im Verhältnis zu den mehr oder minder zahlreiche Bacillen enthaltenden frischen Tuberkeln, welche zur Bereitung des Plasma verwendet wurden. Was die präzipitierenden Substanzen angeht, so hängen die kleinen Differenzen vielleicht von der Leichtigkeit und Schnelligkeit ab, mit der die Zerfallsprodukte der im Tuberkelherd zu Grunde gegangenen Bacillen ins Blut übergehen.

Diese Differenzen sind, wie wir sogleich sehen werden, in den Resultaten, die ich bei den mit experimenteller Tuberkulose an Kaninchen und Meerschweinchen angeführten Versuchen erreichte, weniger hervortretend, da in den Tuberkeln, die sich in diesen mit vom Menschen oder Rind herstammenden Tuberkeln geimpften Tieren entwickelten, viel zahl-

reichere Bacillen als in den spontanen Tuberkeln enthalten sind. — Noch weniger auffallend sind diese Verschiedenheiten in den Resultaten, die ich bei den Experimenten mit Plasmen erhielt, welche ich nur mit Reinkulturen von Tuberkelbacillen, statt mit aus frischem Tuberkelgewebe stammenden Bacillen herstellte.

Nachstehend folgen die Tabellen, welche die Resultate der ersten Versuchsreihe zeigen.

Tabelle I. Versuch V.

Verhalten der Sera gesunder und tuberkulöser Menschen und Rinder gegenüber dem Menschen- und Rindertuberkelplasma.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Menge des Serums vom normalen und tuberkulösen Menschen. — Verhältnis zur präzipitablen Substanz in Kubikcentimetern									
	Serum des gesunden Menschen		Serum vom Menschen mit beginnender Lungentuberkulose		Serum vom Menschen mit vorgeschrittener Lungentuberkulose		Serum des gesunden Rindes		Serum des perlsüchtigen Rindes	
	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
Plasma aus Lungentuberkeln vom Menschen (ganz klar) 2 ccm	+	Λ	++	++	+++	+++	○	○	+	++
Plasma aus Lungen- und Pleuratuberkeln vom Rinde (ganz klar) 2 ccm	Λ	Λ	++	++	++	+++	○	○	+	+++

Zeichenerklärung: ○ = keine Trübung. Λ = sehr geringe, kaum bei starkem künstlichen Licht wahrnehmbare Trübung. + = schwache Trübung. ++ = deutlichere und raschere Trübung (20—30 Minuten). +++ = stärkere, schnell zum Niederschlag neigende Trübung.

Tabelle II. Versuch IX.

Verhalten der Sera gesunder und tuberkulöser Menschen und Rinder gegenüber dem Menschentuberkelplasma (käsige und sehr bacillenreiche Tuberkeln).

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der Sera. — Verhältnis der Sera zum Plasma in Kubikcentimetern.									
	Serum des gesunden Menschen		Serum eines Menschen mit tuberkulösen Lungenkavernen		Serum eines Knaben mit Knochentuberkulose		Serum des gesunden Rindes		Serum eines Rindes mit umschriebener Lungentuberkulose	
	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
Plasma aus käsigen, sehr bacillenreichen Tuberkeln einer Menschenlunge. Ganz hell und farblos. 2 ccm	Λ	+	++	+++	+	++	○	○	+	++

Das Blutserum des gesunden Menschen (d. h. wo selbst der Verdacht geringster Spuren einer beginnenden Tuberkulose ausgeschlossen ist) enthält sehr kleine Mengen von präzipitierenden Substanzen, die man beim Mischen des Serums zum Plasma im Verhältnis von 0,625 g zu

jedem Kubikcentimeter künstlichen Plasmas aus Menschentuberkeln wahrzunehmen beginnt. Bei einigen Versuchen fand ich keine Spur davon, was vielleicht mit den momentanen Eigenschaften des Plasma in Zusammenhang steht (spärliches Vorkommen der Bacillen im Tuberkelgewebe). Dieses Serum gibt auch geringe Spuren von Präzipitinen gegenüber den aus Rindertuberkeln stammenden Plasmen. Das Blutserum gesunder Rinder enthält dagegen keine präzipitierenden Substanzen gegenüber den vom Menschen oder vom Rind herstammenden Plasmen.

Die Sera tuberkulöser Menschen gaben auch nach Absättigung mit Rindertuberkelplasma noch die positive Reaktion auf Menschentuberkelplasma, und ebenso zeigten die Sera tuberkulöser Rinder nach Absättigung mit Menschentuberkelplasma noch eine positive, aber viel schwächere Reaktion. — Das zeigt die Existenz einer echten Spezifität der präzipitierenden Reaktion an und auch das Vorhandensein im Blutserum des normalen Menschen von geeigneten Rezeptoren, die die Eiweißkörper der Tuberkelbacillen sowohl des Menschen als des Rindes und vielleicht auch gewisse, dem Menschen- und Rindertuberkelbacillus gemeinsame Proteide zu binden im stande sind.

Tabelle III. Versuch VIII.

Verhalten der Sera gesunder und tuberkulöser Menschen und Rinder gegenüber dem Rindertuberkelplasma (Tuberkeln aus Lunge und Pleura eines kurz vorher geschlagenen Ochsen).

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Gattung und Menge der verwendeten Sera. — Verhältnis der Immunsera zu den Plasmen in Kubikcentimetern.									
	Serum des gesunden Menschen		Serum des tuberkulösen Menschen		Serum eines 22-jährigen Mannes mit Knochentuberkulose		Serum des gesunden Rindes		Serum eines perlsüchtigen Rindes	
Plasma aus Tuberkeln von Lungen und Pleura eines Rindes (wasserhell) 2 ccm	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
	O	O	+	++	O	+	O	O	+++	+++

Tabelle IV. Versuch X.

Verhalten des Serums des gesunden und tuberkulösen Rindes gegenüber dem Menschen- und Rindertuberkelplasma.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanz. — Verhältnis der Sera zu den Plasmen in Kubikcentimetern			
	Serum eines gesunden Rindes		Serum eines tuberkulösen Rindes	
	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
Plasma aus käsigen Lungentuberkeln des Menschen. Wasserhelles Filtrat. 2 ccm	Λ	Λ	+	++
Plasma aus käsigen Lungentuberkeln eines Rindes. Wasserhelles Filtrat. 2 ccm	Λ	Λ	+++	+++

Die aus diesen 4 Tabellen zusammengefaßten Resultate ergeben:

1) daß das Serum des tuberkulösen Menschen eine viel größere Menge auf das Menschentuberkelplasma spezifisch präzipitierende Substanz enthält, als auf das Rindertuberkelplasma;

2) daß das Serum des tuberkulösen Rindes präzipitierende Substanzen enthält und zwar unter gleichem Verhalten wie oben in reichlicherer Menge gegenüber den Rindertuberkelplasmen als gegenüber den Menschentuberkelplasmen;

3) daß endlich das Serum des gesunden Rindes keine Spur von nachweisbaren präzipitierenden Substanzen enthält, weder gegenüber Menschentuberkelplasma, noch gegenüber Rindertuberkelplasma.

Diese in den beiden letzten Punkten erwähnten Ergebnisse scheinen von großer Wichtigkeit, da sie sich zur Diagnose der Rindertuberkulose hervorragend eignen.

Tabelle V. Versuch IV.

Verhalten der Sera des gesunden und an beginnender Tuberkulose leidenden Menschen gegenüber aus jungen, grauen Lungentuberkeln des Menschen hergestelltem Plasma.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanzen. Verhältnis der Sera zum Plasma in Kubikcentimetern			
	Serum des gesunden Menschen		Serum eines Menschen mit beginnender Lungentuberkulose	
Plasma aus grauen jungen, halb durchsichtigen Tuberkeln von einer Menschenlunge. Klar und wasserhell 2 ccm	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0.250 = 0,125 : 1
	O	O	O	O

Im Plasma aus kürzlich entstandenen, grauen, sehr bacillenarmen Tuberkeln, ohne jede Spur von beginnender käsiger Degeneration, sind keine durch Sera tuberkulöser und gesunder Menschen präzipitable Substanzen nachweisbar.

* * *

Eine zweite Reihe von 6 Versuchen wurde von mir in der Absicht ausgeführt, um festzustellen, ob die soeben erwähnten Resultate sich wieder ergäben, wenn die Zusammensetzung der Probeplasmen geändert würde. Ich verwandte zu diesem Zweck zur Herstellung der genannten Plasmen ganz frische, in den Innenorganen von Meerschweinchen und Kaninchen zur Entwickelung gebrachte Tuberkeln, die durch Impfung sowohl mit vom Menschen als auch vom Rind stammenden Tuberkelmaterial erzeugt worden waren.

Die Ergebnisse dieser zweiten Versuchsreihe bestätigen jene der ersten Serie. Die der Milz, Lunge, Leber und dem Gekröse entnommenen Tuberkeln von Meerschweinchen oder Kaninchen, welche seit 4—5 Wochen mit Menschen- oder Rindertuberkelvirus geimpft waren, zeigten immer eine größere Menge spezifische Bacillen, als die spontan in Organen der Menschen oder Rinder entwickelten Tuberkeln. Die Plasmen wurden in derselben Weise wie bei den Versuchen der ersten Reihe bereitet.

Nachfolgend gebe ich eine Uebersicht einiger Experimente dieser Serie, bei der ich die parallele Beobachtung zwischen dem Serum des tuberkulösen Menschen und dem des tuberkulösen Rindes gegenüber einem und demselben Plasma nicht immer ausführen konnte, da es nicht

stets möglich war, im gewünschten Augenblick ein zweifellos perlsüchtiges Rind zur Verfügung zu haben.

Tabelle VI. Versuch VI.

Verhalten des Serums gesunder und tuberkulöser Menschen gegenüber dem mit Tuberkeln aus der Milz eines mit menschlichem und Rinder-Tuberkelvirus geimpften Meerschweinchen bereiteten Plasma.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanz. — Verhältnis der Sera zu den Plasmen in Kubikcentimetern											
	Serum des gesunden Menschen			Serum eines 31-jähr. Menschen mit tuberkulösen Lungenkavernen			Serum eines 24-jähr. Menschen mit tuberkulösen Lungenkavernen		Serum eines 11-jähr. Knaben mit Knochentuberkulose		Serum eines 22-jähr. Mannes mit tuberkulöser Caries der Wirbelsäule	
Plasma aus Milztuberkeln eines mit Menschentuberkeln 28 Tage vorher geimpften Meerschweinchens. — Bacillenreiche Tuberkeln. Plasma wasserhell (filtriert) 2 ccm	0,02 = 0,01 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,02 = 0,01 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
	?	•Λ	Λ	+	+++	+++	++	++	+	++	++	++
Plasma aus käsigen Tuberkeln von Lymphdrüsen u. Milz eines mit Rindertuberkelvirus geimpften Meerschweinchens. — Bacillenreiche Tuberkeln. Plasma wasserhell (filtriert) 2 ccm	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1		0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1		0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
	O	Λ		Λ	++		+	+	Λ	+	Λ	+

Das Serum eines 30-jähr. tuberkulösen Menschen gab nach der Absättigung mit Rindertuberkelplasma nochmals ein positives Resultat, d. h. einen deutlichen Niederschlag im Menschentuberkelplasma, was für die Spezifität spricht.

Eine interessante Tatsache, die ich sofort nach dem Zusatz der Sera in dem in der Tabelle angegebenen Verhältnis zu den Plasmen beobachtete ist, daß in den Plasmen, welche mit Tuberkeln der Milz von mit Menschentuberkeln geimpften Meerschweinchen bereitet waren, baldigst, und zwar 5 bis 10 Minuten nach Zusatz des Serums eines an tuberkulösen Lungenkavernen leidenden Menschen, die mehr oder minder starke Trübung der ganzen Flüssigkeitssäule eintrat. Bei den Plasmen, die mit Tuberkeln aus

der Milz von mit Rindervirus infizierten Meerschweinchen bereitet waren, erfolgte die Trübung nicht so rasch und stark.

Eine andere Tatsache, welche die Tabelle VI ergibt, betrifft die minimale Serumdosis, welche zur Erlangung des Niederschlages nötig war: vom Serum des gesunden Menschen genügte eine Minimaldosis von $^1/_{48}$ bis $^1/_{50}$ ccm, d. h. 0,02 g, gleich einem halben Tropfen aus meiner Pipette; vom Serum des tuberkulösen Menschen mußte dieses Minimum der präzipitierenden Dosis viel geringer sein, da das gleiche Verhältnis einen sehr starken +++ Niederschlag ergab. Die niedrigste Abgrenzung habe ich indessen damals nicht festgestellt, jedoch später mit dem Serum eines anderen Lungentuberkulosekranken beobachtete ich diese Grenze bei $^1/_{70}$ bis $^1/_{80}$ Tropfen.

Tabelle VII. Versuch VII und VIIbis.

Verhalten des Serums des gesunden und tuberkulösen Rindes gegenüber Plasma, das mit Tuberkeln aus der Milz von mit Menschentuberkelvirus geimpften Meerschweinchen bereitet wurde.

Art und Menge der präziptablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanz. Verhältnis der Sera zu den Plasmen in Kubikcentimeter			
	Serum des gesunden Rindes		Serum vom perlsüchtigen Rinde	
Plasma aus Milztuberkeln eines mit Menschenvirus infizierten Meerschweinchens. Wasserhell (filtriert) 2 ccm	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
	O	O	++	+++

Tabelle VIII. Versuch VII^ter.

Verhalten des Serums des gesunden und tuberkulösen Rindes gegenüber Plasma, das mit Tuberkeln der Milz eines mit Rindertuberkelvirus geimpften Meerschweinchens bereitet wurde.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanz. Verhältnis der Sera zu den Plasmen in Kubikcentimeter			
	Serum des gesunden Rindes		Serum vom perlsüchtigen Rinde	
Plasma aus Milztuberkeln eines mit Rindervirus infizierten Meerschweinchens. Wasserhell (filtriert) 2 ccm	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0.125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
	O	O	+++	+++

Diese zwei Versuche sind sehr entscheidend und beweiskräftig. Die Absättigung des Blutserums des tuberkulösen Rindes, welche ich mit dem Plasma aus Milztuberkeln von mit Menschentuberkelvirus oder mit Rindertuberkelvirus geimpften Meerschweinchen vornahm, zeigte die spezifische präzipitierende Wirkung dieses Serums gegenüber beiden genannten Plasmen und zwar deutlicher und rascher bei Rindertuberkelplasma.

Das Blutserum des gesunden Rindes erzeugt keinen Niederschlag weder auf Plasmen, welche mit Tuberkeln von mit Menschentuberkelmaterial geimpften Meerschweinchen bereitet sind, noch auf solchen, die von Tuberkeln von mit Rindertuberkelmaterial geimpften Meerschweinchen

stammen. Diese Tatsache bildet eine einwandfreie Bestätigung dessen was aus Tabelle I, II, III deutlich hervorgeht. **Derselben muß eine praktische Bedeutung bei der Diagnose der Rindertuberkulose zugeschrieben werden.**

Tabelle VIII. Versuch XI.

Verhalten des Serums vom gesunden und tuberkulösen Menschen, und des Serums vom gesunden und an Tuberkulose des Menschen und des Rindes erkrankten Meerschweinchen gegenüber Plasmen, die aus den Milztuberkeln der sowohl mit Menschen- als mit Rindervirus geimpften Meerschweinchen bereitet sind.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanz. — Verhältnis der Sera zu den Plasmen in Kubikcentimetern									
	Serum des gesunden Menschen		Serum des tuberkulösen Menschen		Serum des gesunden Meerschweinchens		Serum eines mit Menschenvirus geimpften Meerschweinchens		Serum eines mi Rindervirus infizierten Meer schweinchens	
	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 :
Plasma aus Milztuberkeln eines mit Menschenvirus geimpften Meerschweinchens. Wasserhell (filtriert). 2 ccm	Λ	Λ	+	++	O	O	++	+++	+	+
Plasma aus Milztuberkeln eines mit Rindervirus geimpften Meerschweinchens. Wasserhell (filtriert). 2 ccm	Λ	+	+	+	O	O	Λ	+	+++	+++

Auch aus dieser Tabelle geht hervor, daß das Serum vom tuberkulösen Menschen auf mit Menschentuberkeln bereitetes Plasma viel größere Wirkung hat, als auf das mit vom Rind stammenden Tuberkeln präparierte, obwohl diese beiden Virusarten im Meerschweinchenorganismus zur Entwickelung gelangten. Das Serum des gesunden Meerschweinchens verhält sich wie das des Rindes, d. h. es besitzt keine präzipitierenden Substanzen für die Tuberkelplasmen, ob diese jetzt vom Menschen oder vom Rinde stammen. Endlich ergibt sich aus dieser Tabelle, daß die Sera des tuberkulösen Meerschweinchens eine deutliche Spezifität auf Plasmen zeigen, welche demselben Stammtypus angehören wie der desjenigen Virus, welcher für die Infektion des das Immunserum liefernden Meerschweinchens verwendet wurde. — So besitzen die mit Menschentuberkeln infizierten Meerschweinchen ein Immunserum, das auf Menschentuberkelplasmen stärker präzipitierend wirkt als auf Plasmen, die Rindertuberkeln entstammen. Umgekehrt liefern die mit Rindertuberkeln infizierten Meerschweinchen ein Immunserum, das viel wirksamer gegenüber Plasmen von Rindernatur ist, als gegenüber Plasmen, die mit Menschentuberkeln bereitet sind.

Ein gleiches Verhalten konnte ich auch bei Kaninchen beobachten. Die Ergebnisse dieser Experimente beweisen schließlich, daß es zwischen

dem menschlichen Tuberkelvirus und dem Rindertuberkelvirus einen gewissen Unterschied gibt, der mittels der Präzipitinmethode sehr deutlich hervortritt.

* * *

Eine dritte Versuchsreihe unternahm ich, indem ich die Bereitung der Plasmen variierte. Die Plasmen wurden in dieser dritten Reihe nicht mehr mit Glycerinwasser aus dem frischen Tuberkelgewebe, in welchem sich die spezifischen Bacillen gewöhnlich in sehr variabler Menge finden, extrahiert, sondern sie wurden mit üppigen Reinkulturen von Menschentuberkulosebacillen und von Rindertuberkulosebacillen bereitet.

Eine derartige Präparierung der Plasmen brachte mit sich, daß die den Bacillen eigenen präzipitablen Substanzen sich gleichmäßiger in der plasmatischen Flüssigkeit verteilten. Mit dieser Methode, bei der man nur die Bacillenkörper verarbeitete, welche auf künstlichem Nährboden außerhalb des Organismus gewachsen waren, erreichte man den Vorteil, die im Protoplasma der Tuberkelzellen enthaltenen Eiweißsubstanzen auszuschließen und ebenso jene geringe Blutmenge, welche gewöhnlich in den winzigen Gewebsstücken enthalten ist, die unausweißlich zusammen mit den zur Bereitung des Plasma verwendeten Tuberkeln abgetrennt werden.

Bei der Zubereitung dieses anderen Typus von rein bacillären Plasmen ging ich folgendermaßen vor: Gutentwickelte und virulente Reinkulturen von Menschentuberkulosebacillen oder Rindertuberkelbacillen wurden von der Oberfläche der Nährböden abgekratzt und reichlich auf kleine, gut gereinigte und über eine Flamme passierte Deckgläschen ausgebreitet und dann zwischen zwei sterilen Uhrgläsern eingeschlossen, worauf man die Kultur im Thermostat zu 35° 12—15 Tage lang eintrocknen ließ. Die Deckgläschen wurden nach dieser Zeit zusammen mit etwas feinstem Glassand in einem sterilen Mörser sorgfältig gestoßen, um die getrockneten Tuberkelkulturen so fein als möglich zu zermalmen. Die Extraktion dieser Tuberkelkulturen-Detriten erfolgte mit 5 Proz. Glycerin enthaltendem Wasser. Man erhielt so eine leicht opalisierende Flüssigkeit, die nach öfterem Schütteln zentrifugiert wurde. Nach dieser Operation wurde sie ganz hell, war aber noch sehr wenig opalisierend. Einige dieser Plasmen erschienen nach der Filtrierung durch die Berkefeld-Kerze ganz klar und wasserhell. Bei so zubereiteten Plasmen war die dazu verwendete Bacillenmenge mit einer gewissen Genauigkeit zu dosieren und auch besser die Gewichtsverhältnisse zwischen der trockenen bacillären Substanz und der Extraktionsflüssigkeit festzustellen. Doch begnügte ich mich bei diesen ersten Versuchen, nur qualitative Proben auszuführen, ohne auf die Bestimmung des quantitativen Verhältnisses einzugehen.

Die Ergebnisse dieser dritten Versuchsreihe sind im allgemeinen entscheidend und beweisend, so daß ich, da die dem Protoplasma der Tuberkelzellen eigenen Eiweißkörper sowie auch das Blut entfernt waren, weniger nötig hatte, Absättigungsproben der Sera vorzunehmen, um die Spezifität ihrer Wirkung festzustellen. In dieser Reihe wurden 10 Versuche ausgeführt, und zwar 5 mit Plasmen aus Rindertuberkulosekulturen und 5 mit Plasmen aus Menschentuberkulosekulturen. Nicht nur die Sera des gesunden und tuberkulösen Menschen und Rindes wurden ge-

prüft, sondern auch die von gesunden Meerschweinchen und Kaninchen und ebenfalls die Sera der gleichen sowohl mit Menschentuberkelvirus als auch mit Rindertuberkelvirus geimpften Tiere.

In den folgenden Tabellen sind die Ergebnisse meiner Experimente kurz dargestellt.

Tabelle IX. Versuch XII.

Wirkung der Sera von gesunden und tuberkulösen Menschen und von gesunden und mit Menschen- und Rindertuberkulose infizierten Meerschweinchen auf sowohl mit Menschen- als mit Rindertuberkelbacillenkulturen bereitete Plasmen.

Art und Menge der präzipitablen Substanz		Art und Menge der präzipitierenden Substanz. — Verhältnis der Sera zu den Plasmen in Kubikcentimetern									
		Serum des gesunden Menschen		Serum eines tuberkulösen Menschen mit Lungenkavernen		Serum des gesunden Meerschweinchens		Serum des mit Menschentuberkulose infizierten Meerschweinchens		Serum des mit Rindertuberkulose infizierten Meerschweinchens	
		0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 :
Plasma aus Reinkultur von Rindertuberkulosebacillen.	Wasserhell (filtriert) 2 ccm	O	Λ	Λ	+	O	⊙	O	⊙	+++	+++
Plasma aus Reinkultur von Menschentuberkulosebacillen.	Wasserhell (filtriert) 2 ccm	O	⊙	++	+++	O	O	++	+++	O	O

Aus diesem Versuch ergibt sich, daß das Blutserum des gesunden wie auch des an vorgeschrittener Lungentuberkulose leidenden Menschen keine spezifische Wirkung auf Plasmen ausübt, die mit Reinkulturen des Rindertuberkulosebacillus bereitet sind. Ebenso zeigt das Blutserum gesunder sowie an Rindertuberkulose leidender Meerschweinchen keine Wirkung auf dieses Plasma. — Dieser Versuch beweist ferner, wie umgekehrt das Blutserum des tuberkulösen Menschen, sowie des mit Menschentuberkulose infizierten Meerschweinchens eine starke präzipitierende Wirkung nur auf jenes Plasma ausübt, das mit Reinkulturen von Menschentuberkulosebacillen präpariert ist.

Das Virus der Menschen- resp. Rindertuberkulose bewahrt im Organismus des Meerschweinchens seinen konstant verschiedenen Typus, d. h. sowohl das eine wie das andere in den Organismus des Meerschweinchens eingeführte Virus regt die Bildung von antagonistischen Substanzen an, d. h. von Antikörperpräzipitinen, welche im Blute kreisen und ihre spezifische Wirkung nur auf diejenige der beiden Varietäten des Tuberkelvirus erweisen, welche für die Impfung des Meerschweinchens angewendet wurde (s. Tabelle X).

Dieser gelungene Versuch zeigt die Spezifität der Präzipitine des Serums tuberkulöser Rinder gegenüber dem mit Rindertuberkelbacillen bereiteten Plasma und bestätigt das völlige Ausbleiben einer präzipitierenden Wirkung des Serums normaler Rinder. In der Praxis kann also dieser Versuch zur Diagnose der Perlsucht der Rinder Anwendung finden, falls man das Tuberkulin nicht benützen kann oder will (s. Tab. XI u. XII).

Tabelle X, Versuch XV.

Wirkung des Serum des gesunden und tuberkulösen Rindes auf mit Rinder- und Menschentuberkelbacillen bereitete Plasmen.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanz — Verhältnis der Sera zum Plasma in Kubikcentimetern			
	Serum eines gesunden Rindes		Serum eines stark perlsüchtigen Rindes	
	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,065 : 1	0,250 = 0,125 : 1
Plasma aus Reinkulturen von Menschentuberkulosebacillen — Wasserhell 2 ccm	○	⊙	⊙	Λ ⊙
Plasma aus Reinkulturen von Rindertuberkulosebacillen — Wasserhell 2 ccm	○	⊙	++	+++

Tabelle XI, Versuch XIII.

Wirkung der Sera des gesunden und tuberkulösen Menschen — des gesunden und mit Menschentuberkulose infizierten Kaninchens — und des gesunden Hundes auf aus Menschen- und Rindertuberkelkulturen bereitete Plasmen.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanz — Verhältnis der Sera auf die Plasmen in Kubikcentimeter													
	Serum eines 16-jährig. gesunden Mädchens		Serum eines gesunden Menschen		Serum eines tuberkulösen Menschen mit Lungenkavernen		Serum eines Mannes mit käsiger Infiltration der Lungenspitze		Serum eines gesunden Kaninchens		Serum eines $3^1/_2$ Monat vorher mit Menschentuberkeln infizierten Kaninchens, das Lunge, Milz, Oment, Leber u. Niere voll Tuberkel zeigte		Serum eines gesunden Hundes	
	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = ,0125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1	0,125 = 0,062 : 1	0,250 = 0,125 : 1
Plasma aus Reinkulturen d. Menschentuberkelbacillen Wasserhell 2 ccm	⊙	⊙	⊙	⊙	++	+++	+++	+++	⊙	⊙	++	+++	⊙	○
Plasma aus Reinkultur von Rindertuberkelbacill. Wasserhell 2 ccm	⊙	⊙	○	○	+	++	+	+	○	○	+	++	⊙	○

Tabelle XII, Versuch XIV.

Wirkung der Sera des gesunden und tuberkulösen Menschen — des gesunden oder mit Menschentuberkelvirus oder mit Rindertuberkelvirus infizierten Kaninchens und Meerschweinchens auf mit Menschen- oder Rindertuberkelkulturen bereitete Plasmen.

Art und Menge der präzipitablen Substanz	Art und Menge der präzipitierenden Substanz — Verhältnis der Sera zu den Plasmen in Kubikcentimeter													
	Serum eines gesunden Menschen		Serum eines 40-jähr. tuberkulösen Menschen		Serum eines gesunden Kaninchens		Serum eines m. Menschentuberkeln 5 Monate vorher geimpften Kaninchens (sehr abgemagert)		Serum eines mit Rindertuberkeln 1 Monat vorh. infizierten Kaninchens		Serum eines gesunden Meerschweinchens		Serum eines mit Rindertuberkeln 1 Monat vorher infizierten Meerschweinchen	
	0,125 / 0,062 = 1 : 1	0,250 / 0,125 = 1 : 1	0,125 / 0,062 = 1 : 1	0,250 / 0,125 = 1 : 1	0,125 / 0,062 = 1 : 1	0,250 / 0,125 = 1 : 1	0,125 / 0,062 = 1 : 1	0,250 / 0,125 = 1 : 1	0,125 / 0,062 = 1 : 1	0,250 / 0,125 = 1 : 1	0,125 / 0,062 = 1 : 1	0,250 / 0,125 = 1 : 1	0,125 / 0,062 = 1 : 1	0,250 / 0,125 = 1 : 1
Plasma aus Reinkulturen d. Menschentuberkelbacill. Wasserhell 2 ccm	○	○	Λ	++	○	○	++	+++	○	○	○	○	○	○ Die Sektion ergab keine Tuberkulose
Plasma aus Reinkultur von Rindertuberkelbacill. Wasserhell 2 ccm	○	○	○	○	○	○	○	+	++	++	○	○	○	○ Die Sektion ergab keine Tuberkulose

Diese Versuche zeigen im allgemeinen die Spezifität der Präzipitine des Serums von tuberkulösen Menschen, Meerschweinchen und Kaninchen gegenüber den mit der betreffenden Gattung von Tuberkelbacillen bereiteten Plasmen. Die spezifische präzipitierende Wirkung ist jedoch bei diesen Tieren nicht so hervortretend und entschieden wie beim tuberkulösen Rinde (siehe Tab. X), bei dem sich nur spezifische Präzipitine gegen den Bacillus der homologen Tuberkulose, d. i. des Rindes, zu bilden scheinen. Im Organismus des tuberkulösen Menschen findet manchmal die Bildung gewisser Präzipitine statt, die auch auf mit Rindertuberkelkulturen hergestellte Plasmen wirken. Das könnte in solchen Fällen auch den Gedanken erwecken, daß die bei jenen Personen bestehende Tuberkulose, deren Serum erprobt wurde, zufällig durch Infizierung mit Rindertuberkulose entstanden sei. Aber diese Annahme ist nicht stichhaltig, wenn man bedenkt, daß Kaninchen, welche durch endoperitoneale Einspritzung einer Emulsion aus vom perlsüchtigen Rinde oder dem Menschen stammenden Tuberkeln experimentell tuberkulös gemacht wurden, dennoch eine geringe präzipitierende Wirkung auch gegenüber heterogenen, will sagen mit anderen Typen von Tuberkelkulturen hergestellte Plasmen zeigt.

Beim Kaninchen ruft also in ersichtlicherer Weise als im menschlichen Organismus die Einführung eines gegebenen Typus von Tuberkelvirus — komme er vom Menschen oder vom Rinde — die Bildung von Antikörpern d. h. von Präzipitinen hervor, welche spezifisch nicht nur auf die mit dem zur Impfung angewandten Bacillentypus bereiteten Plasma, sondern auch auf jene des anderen Typus, wenn auch in ge-

ringerem Grade, einwirken. So wird, wenn zur Impfung Rindervirus angewandt wurde, das Kaninchenblutserum viel wirksamer gegenüber dem mit Rindertuberkelbacillen bereiteten Plasma sein, als gegenüber dem mit Kulturen von Menschentuberkelbacillen präparierten, und umgekehrt. Ob dies von der großen Empfindlichkeit des Kaninchenorganismus gegenüber der tuberkulösen Infektion durch einen oder den anderen Typus von Menschen oder Rind abhängt, so daß sich gleichzeitig multiple Antikörperpräzipitine von verschiedener biologischer Funktion bilden, oder ob es dagegen daran liegt, daß wegen der großen Affinität zwischen den Bacillen der Menschen- und der Rindertuberkulose, von diesen beiden Bacillenstämmen mehrartige proteische Substanzen gebildet werden, von denen einige von verschiedener und andere von gleicher Zusammensetzung sind, auf die gerade die Präzipitine einwirken, muß noch ferneren Untersuchungen überlassen bleiben.

Die Absättigungsversuche, die ich auf den Seris verschiedener mit beiden Tuberkulosearten geimpften Kaninchen mit homogenen und heterogenen Plasmen ausführte, bewiesen stets, daß die entwickelten Antikörperpräzipitine sowohl auf die homogenen wie auch auf die heterogenen Plasmen spezifisch wirken, auf die ersteren aber der Effekt stärker hervortretend ist.

Die Ergebnisse der in diesen zwei letzten Tabellen vorgeführten vier Experimente sind so klar und übereinstimmend mit denen zweier anderer späterer Experimente, daß ich es für überflüssig halte, diese in einer weiteren Tabelle vorzulegen.

Wenn ich jetzt hier versuche, zusammenzufassen, was aus allen meinen Experimenten hervorgeht, so gelange ich zu folgenden Schlüssen:

1) Die Blutsera einiger spontan an Tuberkulose erkrankter Tiere (Menschen, Rinder) üben sowohl auf die Eiweißkörper des frischen Tuberkelgewebes, als auch auf die proteischen aus den Tuberkelbacillenkulturen extrahierbaren Substanzen eine spezifische präzipitierende Wirkung aus. Diese präzipitierende Eigenschaft besitzt manchmal auch das Blutserum gesunder Menschen in sehr beschränktem Maße. Die Zunahme dieser präzipitierenden Eigenschaft des Serums oder das Erscheinen derselben im Verlaufe der Tuberkulose wird durch die aus den primitiven Tuberkelherden im ganzen Organismus sich verbreitenden kleinen Mengen von Tuberkelprodukten verursacht, welche, sei es von der Zerstörung der Bacillen, sei es vom Zerfall degenerierter Zellen herrühren. Es handelt sich um eine Schutzreaktion des Organismus, wobei das Serum durch das Erscheinen dieser Antikörperpräzipitine die Eigenschaften eines echten Immunserums erwirbt.

2) Die präzipitierende Wirkung des Blutserums tuberkulöser Kranker zeigt sich nicht im gleichen Maße gegenüber Tuberkelplasmen aller Tiere, welche spontan an Tuberkulose erkranken können. So wirkt das Immunserum des tuberkulösen Menschen vorwiegend auf Plasmen, die mit Menschentuberkeln präpariert sind, oder auf Extrakte aus Kulturen von Menschentuberkelbacillen, während das Serum des tuberkulösen Rindes fast ausschließlich gegenüber Plasmen aus Rindertuberkeln oder aus Extrakten von Bacillenkulturen, die von Rindertuberkeln stammen, wirksam ist. Andererseits wirkt das sich in mit Menschentuberkeln geimpften Meerschweinchen bildende Immunserum fast ausschließlich auf die mit Menschentuberkeln bereiteten Plasmen, oder auf Extrakte von aus Menschentuberkeln herstammenden Bacillenkulturen, während es sehr wenig oder gar nicht gegenüber aus Rindertuberkeln oder den betreffenden

Bacillenkulturen bereiteten Plasmen wirksam ist. Gegenüber diesen Plasmen sind dagegen die Blutsera der mit Rindertuberkeln infizierten Meerschweinchen sehr wirksam.

3) Durch die biologische Präzipitinmethode gelingt es einen wirklichen Unterschied zwischen den Tuberkelbacillen des Menschen und des Rindes festzustellen. Diese Differenz ergibt sich nicht nur durch die verschiedene präzipitierende Wirkung des Blutserums von tuberkulösen Menschen und Rindern auf Plasmen, die mit frischen dem Menschen oder Rind entnommenen und den Körper des Meerschweinchens manchmal passiert habenden Tuberkeln bereitet waren, sondern erscheint auch infolge der verschiedenen spezifischen präzipitierenden Wirkung der Sera von, sei es mit Menschen-, sei es mit Rindertuberkeln infizierten Meerschweinchen. Vor allem akzentuiert sich dieser Unterschied durch die ungleiche Präzipitierungskraft, die die Blutsera der mit Menschen- und Rindervirus infizierten Tiere auf die proteischen, aus den Kulturen der Menschentuberkulosebacillen extrahierten Substanzen ausüben im Vergleiche mit denen, welche aus Kulturen von Rindertuberkulosebacillen extrahiert werden.

4) Im Organismus des Kaninchens ruft die experimentelle, sowohl mit vom Menschen als vom Rinde stammenden Tuberkeln mit Erfolg vorgenommene Impfung schon nach 3—4 Wochen die Bildung von Antikörperpräzipitinen hervor, welche auf die proteischen Substanzen, die, sei es aus Kulturen von Rindertuberkelbacillen, sei es von Menschentuberkelbacillen extrahiert sind, ihre spezifische Wirkung ausüben. Dies trifft beim Meerschweinchen nicht zu, welches, wie bekannt, gleich dem Kaninchen für beide Tuberkulosearten (Menschen und Rinder) empfindlich ist. Im Organismus des Meerschweinchens bewahrt jede dieser Tuberkulosearten ihren eigenen separaten Typus, d. h. gibt Anlaß zur Bildung von Antikörperpräzipitinen, welche nur auf Plasmen, die mit derjenigen Virusart bereitet sind, welche für die Impfung des Meerschweinchens angewendet wurde, wirksam sind.

5) Die Spezifität der präzipitierenden Reaktionen ist wechselseitig mit der Absättigungsmethode der Immunsera nachweisbar.

6) Das Blutserum des normalen Rindes enthält keine wirksamen Präzipitine gegenüber Tuberkelplasmen, seien sie mit frischen Tuberkeln beider Tuberkulosearten, oder mit Tuberkelbacillenkulturen bereitet. Bei der mehr oder weniger vorgeschrittenen Tuberkuloseinfektion beladet sich das Blutserum der Rinder mit einer gewissen Menge von Präzipitinen, die nur auf mit von Rindertuberkeln oder resp. Kulturen hergestellte Plasmen spezifisch wirken. Dieses Ergebnis ist von Wichtigkeit, indem es in der Praxis zur Feststellung der Diagnose auf Rindertuberkulose angewendet werden kann.

Literatur.

1) Bordet, Annales de l'Institut Pasteur. 1899. p. 240.
2) Tschistovitch, Annales de l'Institut Pasteur. 1899. p. 406.
3) Uhlenhuth, Deutsche med. Wochenschr. 1901. p. 82 u. 260.
4) Wassermann u. Schultze, Berliner klin. Wochenschr. 1901. No. 7.
5) Uhlenhuth, Deutsche med. Wochenschr. 1902. p. 659.
6) Ehrlich u. Morgenroth, Berliner klin. Wochenschr. 1899. 1901.
7) Kister u. Weichard, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1902. No. 20.
8) Ascoli, Münchener med. Wochenschr. 1902. p. 1409. — Biochemisches Centralblatt II. Autoreferat.
9) Ide, Bulletin de l'Acad. Royale de méd. de Belgique. 1903. p. 913.

10) Michaelis, Deutsche med. Wochenschr. 1902 u. 1904.
11) —, Zeitschr. f. klin. Medizin. Heft 56. p. 409.
12) —, Biochemisches Centralbl. III. p. 693.
13) Liepmann, Deutsche med. Wochenschr. 1902. p. 911.
14) —, Deutsche med. Wochenschr. 1903. p. 80 u. 383.
15) Uhlenhuth, Festschrift für Robert Koch. 1903. p. 49.
16) Pfeiffer, Wiener klin. Wochenschr. 1905. No. 24.
17) Trossner, Münchener med. Wochenschr. 1905. p. 892.
18) Grund, Deutsches Archiv für klin. Medizin. Bd. LXXXVII. 1906. Heft 1 u. 2. p. 148.

Nachweis des Pfeifferschen Bacillus im Blute und in der Milz bei Influenza[1]).

[Institut für klinische Medizin der Königl. Universität zu Genua. Direktor: Prof. E. Maragliano.]

Von Dr. G. Ghedini, etatsmäßigem Assistenten.

Uebers. von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Von Pfeiffer und Beck verneint, von Bruschettini und Canon bejaht, steht die Frage nach dem Vorkommen des spezifischen Bacillus im Blute der Influenzakranken noch jetzt, nach 14 Jahren, in lebhafter Diskussion.

---

1) Aus den Exsudaten der Conjunctiva, der Tonsillen, des Pharynx, Larynx, der Bronchen, Lungen, Pleuren etc. und aus dem Blute (post mortem) von Individuen, die an Conjunctivitis, Diphtherie, Varicellen, Masern, Scharlach, Keuchhusten etc. litten, sind in den letzten Jahren von Giarrè und Pichi, Pacchioni, Jehle, Süsswein, Liebscher, Leiner, Albrecht, Ghon, Czajkowski, Czaplewski, Auerbach, Jochmann, Rymowitsch, Jundell, Rosenthal, Emalssian etc. zahlreiche Mikroorganismen isoliert wurden, die unter dem gemeinsamen Namen hämophile Bakterien zusammengefaßt sind. Diese hämophilen Bakterien sind nach der Ansicht einiger Autoren nur gewöhnliche inaktive Saprophyten der Luftwege, die nur ausnahmsweise pathogene Eigenschaften annehmen, — nach der Meinung anderer dagegen sind sie aktiv und stets pathogen. Letztere Autoren teilen sich in drei Kategorieen: die eine behauptet, daß die hämophilen Bakterien mit dem Pfeifferschen Bacillus identisch sind, die andere, daß sie nur hinsichtlich ihrer pathogenen Wirkung, und die dritte, daß sie substantiell verschieden sind. Ich halte es nicht für angebracht, in dieser kurzen Anmerkung eingehende kritische Bemerkungen über die angedeuteten Untersuchungen und Ansichten über die morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften der verschiedenen beschriebenen hämophilen Bakterien zu machen, die sicherlich nicht mit ihnen übereinstimmen würden. Ich beschränke mich hier nur auf eine Bemerkung allgemeiner Natur, die sich vor allem gegen die Auffassung richtet, daß die hämophilen Bakterien mit dem typischen und aktiven Influenzabacillus identisch und allein die Ursache der betreffenden krankhaften Veränderungen seien, wodurch die spezifische Aetiologie dieser Infektion in hohem Maße in Frage gestellt würde.

Meiner Meinung nach darf man den typischen und aktiven Influenzabacillus nicht für einen Bacillus halten, der, obwohl er im Blute vorkommt, viele und schwere organische Veränderungen hervorruft und eine üppige Lebenskraft zeigt, nicht, auch nur teilweise, die klinischen Symptome der Influenza, wohl aber die der Masern, Scharlach etc. verursacht.

Wenn auch die beiden Bakterien verwandt und in morphologischer und kultureller Beziehung allenfalls ähnlich sind, so genügt dies noch lange nicht, um sie zu identifizieren, denn ihre pathogene Wirkung im menschlichen Organismus ist ganz verschieden, d. h. die Eigenschaft, welche bei der diagnostischen Bestimmung die Hauptrolle spielen muß. Wäre dies nicht der Fall, so müßte die Bakteriologie die Möglichkeit zugeben, daß ein und derselbe Keim verschiedene Krankheiten mit verschiedenen Symptomen

Die Diskussion wurde fortgesetzt von Weichselbaum, Borchardt, Huber, Voges, Kühnau, Pielicke, Cantani jun., Jochmann, die auf der Seite der ersten beiden stehen, und von Letzerich, Pfuhl, Cornil-Chantemesse, Klein und Meunier, welche die Ansicht der beiden letzten Forscher vertreten.

Trotz der so zahlreichen Untersuchungen ist diese Tatsache noch immer nicht sicher festgestellt. Denn bei einigen war die Kasuistik zu spärlich und bei anderen wieder die Untersuchungsmethode sehr mangelhaft. Die Ungewißheit zeitigte ihrerseits wieder große Mißstände; sie machte neue und verschiedene Ansichten über die Aetiologie der Influenza möglich, machte die Erklärung der Pathogenese vieler Krankheitserscheinungen unsicher und nahm im Falle einer zweifelhaften Diagnose der Klinik das Vertrauen zu einem Mittel, welches die Diagnose rasch sichergestellt hätte.

Um diesem Uebelstande abzuhelfen, gibt es nur einen Weg. Man muß mit Geduld und Sorgfalt bei einer großen Anzahl von Influenzakranken mit Hilfe der neuesten und sichersten technischen Verfahren den spezifischen Bacillus im Blute nachzuweisen versuchen. Nur auf diese Weise wird es gelingen, jeden Zweifel endgültig zu beseitigen und vielleicht dem Pathologen und Kliniker ein diagnostisches Hilfsmittel an die Hand zu geben, dessen Fehlen schon immer sehr bedauert wurde.

Ueber diesen Punkt Klarheit zu schaffen, soll nun der Zweck vorliegender Arbeit sein.

Untersuchungsmethode. Der Nachweis des Bacillus wurde an Influenzakranken vorgenommen, die während des letzten Winters, wo eine Grippeninfektion mit epidemischem Typus und ziemlich schwerem Verlaufe in Genua herrschte, in der medizinischen Klinik lagen.

Das zur Untersuchung erforderliche Blut wurde aus der Armvene nach vorhergehender Desinfektion der betreffenden Stelle in einer Menge von 20—30 ccm mittels einer sterilisierten Hohlnadel gewonnen. Das Blut wurde in 2—3 sterile Röhrchen verteilt, defibriniert und mit 2—3 ccm Bouillon gemischt, der Lecithin zugesetzt worden war[1]). Dann wurde es in einen Brutschrank bei 37° gestellt und nach 30—36 Stunden in Präparaten ohne besondere Vorbereitung untersucht. Hierauf wurden 5—6 Tropfen des Materials in blut- und lecithinhaltige Bouillon oder auf Blutagar, der auch einen Lecithinzusatz erhielt, ausgesät. Diese geimpften Medien wurden dann auch ihrerseits in den Brutschrank gestellt. Um schneller zum Ziele zu kommen, säte ich manchmal ohne weiteres einige Tropfen defibrinierten Blutes gleich nach ihrer Entnahme vom Patienten

---

und Verlauf hervorrufen könne; dies würde aber den modernsten und positiven Teil unserer wissenschaftlichen Kenntnisse umstoßen.

Uebrigens ist es für den Kliniker, der sich mit dem Studium der Influenza beschäftigt, von größter Wichtigkeit, zu wissen, ob der von Pfeiffer und Bruschettini beschriebene hämophile Bacillus bei Influenzakranken überhaupt, und wann und wo er vorkommt. Hierüber besitzen wir eine so reiche Literatur und so konstante und sichere Befunde, daß sie bei neuen Untersuchungen und Ansichten wohl beachtet werden müssen.

Es sind jetzt nur noch einige kleine Fragen zu lösen; von diesen ist in praktisch-diagnostischer Hinsicht die wichtigste, ob der Influenzabacillus im Blute und in der Milz der Influenzakranken vorkommt. Mit diesem Gegenstande beschäftigt sich nun die vorliegende Arbeit.

1) Die Vorschrift zur Herstellung dieser Bouillon rührt von Herrn Professor Bruschettini vom Institut für Infektionskrankheiten zu Genua her. Ich möchte ihm an dieser Stelle für die wertvollen Ratschläge, mit denen er diese und andere Arbeiten von mir unterstützt hat, meinen ergebensten Dank aussprechen.

auf Lecithinagar (d. h. gewöhnlichen Agar, dem 2—3 Tropfen lecithinhaltiger Bouillon zugesetzt waren).

Der Milzsaft wurde mittels sterilisierter Hohlnadel und Spritze gewonnen und zum Nachweise des Mikroorganismus das oben geschilderte Verfahren angewandt.

Zur Diagnose des Bakteriums wurden jedesmal folgende Eigenschaften in Betracht gezogen:

1) die färberischen Eigenschaften (Färbung mit verdünntem Ziehlschen Fuchsin und Löfflerschem Blau; Entfärbung nach der Gramschen Methode);

2) die morphologischen Charaktere (Breite 0,2—0,5 μ, Länge 4—6 μ; manchmal [Involutionsstadien] in Form einer Birne oder eines ausgezogenen Coccus, häufiger aber mit vielen Chromatingranulis an beiden Polen, so daß ein Diplococcus vorgetäuscht wurde; unbeweglich, ohne Sporen, oft zu kleinen Haufen vereinigt oder in Form kurzer Fäden);

3) die kulturellen Eigentümlichkeiten (reichliche Entwickelung ausschließlich auf Agar und auf mit Blut versetzter Bouillon, noch besser ist die Entwickelung, wenn der Bouillon auch noch Lecithin zugesetzt ist. Temperaturoptimum 37°; Aufenthaltsoptimum im Thermostaten 36—40°);

4) die Charaktere der Kultur (auf Blutagar Bildung von Kolonieen, die, in ihrer Jugend sehr klein, transparent, wenig erhaben, runzelig und rund sind, getüpfelte Umrisse haben und nicht zusammenfließen; werden sie älter, so sind sie etwas größer und opak und fließen oft zusammen. Es tritt Trübung der Bouillon und Reduktion des Hämoglobins ein);

5) die biologischen Eigenschaften (die Lebensfähigkeit ist schwach, sie erlischt bei 60°. Die Virulenz ist für die gewöhnlichen Laboratoriumstiere [Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde, Affen] nur gering, sie kann jedoch unter günstigen Bedingungen erhöht werden. Deutliche Toxinbildung. Pathogene Wirkung, besonders auf das Nervensystem. Umfangreiche und eingehende Schilderungen dieser letzten Eigenschaften finden sich in den Arbeiten von Bruschettini, der sich hiermit ganz besonders beschäftigt hat).

Positive Fälle.

1) P. S., 27 Jahre. Bett No. 28. Eintritt in die Klinik am 13. Febr. Entlassen am 22. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 2. Febr. Besondere Erscheinungen: Bronchopneumonie. Temp. 38,8. Puls 92. Respiration 22. Höchste Temp. 39,5 am 14. Febr. Abfall des Fiebers am 18. Febr. Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes	am 14. Febr.	=	Befund:	+
„ „ Milzsaftes	„ 14. „	=	„	+
„ „ Blutes	„ 19. „	=	„	—
„ „ Milzsaftes	„ 19. „	=	„	—

2) B. C., 35 Jahre. Bett No. 9. Eintritt in die Klinik am 5. Jan. Entlassen am 17. Jan. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 2. Jan. Besondere Erscheinungen: Oedeme an den Gelenken. Temp. 38,2. Puls 120. Respiration 26. Höchste Temperatur 38,8 am 6. Jan. Abfall des Fiebers am 8. Jan.

Entnahme des Blutes	am 6. Jan.	=	Befund:	+
„ „ Milzsaftes	„ 6. „	=	„	+
„ „ Blutes	„ 9. „	=	„	—
„ „ Milzsaftes	„ 9. „	=	„	—

3) B. D., 35 Jahre. Bett No. 16. Eintritt in die Klinik am 5. Jan. Entlassen am 18. Jan. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome am 5. Jan. mit Fieber. Besondere

Erscheinungen: Hämorrhagische katarrhalische Enterocolitis. Temp. 38,5. Puls 80. Respiration 24. Höchste Temperatur 40 am 10. Jan. Abfall des Fiebers am 12. Jan.

Entnahme des Blutes am 10. Jan. = Befund: +
" " Milzsaftes " 10. " = " +
" " Blutes " 13. " = " —
" " Milzsaftes " 13. " = " —

4) B. R., 24 Jahre. Bett No. 31. Eintritt in die Klinik am 16. Jan. Entlassen am 7. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 14. Jan. Besondere Erscheinungen: Bronchopneumonie, Kollaps, Delirium. Temp. 39,4. Puls 102. Respiration 38. Höchste Temperatur 40,4 am 17. Jan. Abfall des Fiebers am 20. Jan. Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 17. Jan. = Befund: +
" " Milzsaftes " 17. " = " +
" " Blutes " 22. " = " —
" " Milzsaftes " 22. " = " —

5) M. C., 23 Jahre. Bett No. 42. Eintritt in die Klinik am 22. Febr. Entlassen am 28. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome am 16. Febr. mit Fieber. Besondere Erscheinungen: Bronchitis catarrhalis. Temp. 38,4. Puls 80. Respiration 24. Höchste Temperatur 38,6 am 23. Febr. Abfall des Fiebers am 25. Febr. Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 22. Febr. = Befund: +
" " " " 26. " = " —

6) B. R., 19 Jahre. Bett No. 41. Eintritt in die Klinik am 17. Febr. Entlassen am 28. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome am 16. Febr. mit Fieber. Besondere Erscheinungen: Bronchopneumonie. Temp. 40. Puls 110. Respiration 24. Höchste Temperatur 40,5 am 18. Febr. Abfall des Fiebers am 23. Febr. Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 18. Febr. = Befund: +
" " Milzsaftes " 18. " = " +
" " Blutes " 24. " = " —
" " Milzsaftes " 24. " = " —

7) C. G., 19 Jahre. Bett No. 13. Eintritt in die Klinik am 2. Febr. Entlassen am 8. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome am 18. Febr. mit Fieber. Besondere Erscheinungen: Bronchitis catarrhalis. Temp. 38,4. Puls 98. Respiration 20. Höchste Temperatur 38,9 am 3. Febr. Abfall des Fiebers am 6. Febr. Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 3. Febr. = Befund: +
" " " " 7. = " —

8) S. V., 34 Jahre. Bett No. 27. Eintritt in die Klinik am 17. Febr. Entlassen am 23. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 16. Febr. Besondere Erscheinungen: Bronchitis catarrhalis. Temp. 39,4. Puls 102. Respiration 22. Höchste Temperatur 39 am 18. Febr. Abfall des Fiebers am 21. Febr. Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 18. Febr. = Befund: +
" " " " 22. " = " —

9) C. A., 22 Jahre. Bett No. 32. Eintritt in die Klinik am 1. März. Entlassen am 12. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 26. Febr. Besondere Erscheinungen: Bronchopneumonie. Temp. 39,4. Puls 106. Respiration 21. Höchste Temperatur 39,5. Abfall des Fiebers am 9. März. Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 2. März = Befund: +
" " " " 11. " = " —

10) R. G., 45 Jahre. Bett No. 16. Eintritt in die Klinik am 23. Jan. Gestorben am 15. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 10. Jan. Besondere Erscheinungen: Bronchitis catarrhalis, Pleuritis exsudativa sinistra, Enteritis, Perihepatitis und Hepatitis degenerativa, Nephritis parenchymatosa acuta. Temp. 39,2. Puls 104. Respiration 22. Höchste Temperatur 40,4. Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 25. Febr. = Befund: +
" " Milzsaftes " 25. " = " +
" " Blutes " 27. " = " —
" " Milzsaftes " 27. " = " —

11) G. J., 28 Jahre. Bett No. 16. Eintritt in die Klinik am 15. Febr. Entlassen am 27. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 14. Febr. Besondere Erscheinungen: Bronchopneumonie. Temp. 39. Puls 100. Respiration 24. Höchste Temperatur 39,5 am 17. Febr. Abfall des Fiebers am 23. Febr.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 16. Febr. = Befund: +
„ „ „ „ 25. „ = „ —

12) A. L., 25 Jahre. Bett No. 1. Eintritt in die Klinik am 21. März. Entlassen am 29. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 17. März. Besondere Erscheinungen: Pleuritis exsudativa dextra. Temp. 38. Puls 70. Respiration 22. Höchste Temperatur 37,4 am 21. März. Abfall des Fiebers am 23. März.

Entnahme des Blutes am 21. März = Befund: +
„ „ Milzsaftes „ 21. „ = „ +
„ „ Blutes „ 24. „ = „ —

13) C. J., 20 Jahre. Bett No. 45. Eintritt in die Klinik am 25. Febr. Entlassen am 5. April. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 1. Febr. Besondere Erscheinungen: Peritonitis exsudativa sero-fibrinosa. Temp. 38,2. Puls 100. Respiration 22. Höchste Temperatur 39 am 28. Febr. Abfall des Fiebers am 5. März.

Entnahme des Blutes am 26. Febr. = Befund: +
„ „ „ „ 10. März = „ —

14) B. G., 55 Jahre. Bett No. 4. Eintritt in die Klinik am 15. Febr. Entlassen am 28. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 8. Febr. Besondere Erscheinungen: papulöse Eruption auf der Haut. Temp. 39,6. Puls 98. Respiration 20. Höchste Temperatur 39,5 am 18. Febr. Abfall des Fiebers am 22. Febr.

Entnahme des Blutes am 16. Febr. = Befund: +
„ „ „ „ 23. „ = „ —

15) P. G., 23 Jahre. Bett No. 26. Eintritt in die Klinik am 1. Febr. Entlassen am 7. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 29. Jan. Besondere Erscheinungen: Bronchopneumonie, doppelseitige exsudative Pleuritis. Temp. 38,8. Puls 100. Respiration 26. Höchste Temperatur 39,6 am 3. Febr. Abfall des Fiebers am 5. Febr.

Entnahme des Blutes am 2. Febr. = Befund: +
„ „ „ „ 6. „ = „ —

16) J. L., 24 Jahre. Bett No. 9. Eintritt in die Klinik am 29. Dez. 1905. Entlassen am 5. Jan. 1906. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 28. Dez. Besondere Erscheinungen: Laryngo-pharyngitis, katarrhalische Bronchitis. Temp. 40,2. Puls 84. Respiration 24. Höchste Temperatur 38,8 am 30. Dez. Abfall des Fiebers am 31. Dez.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 30. Dez. = Befund: +
„ „ „ „ 2. Jan. = „ —

17) P. G., 19 Jahre. Bett No. 30. Eintritt in die Klinik am 8. März. Entlassen am 23. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 7. März. Besondere Erscheinungen: Enteritis in typhöser Form. Temp. 38,9. Puls 100. Respiration 26. Höchste Temperatur 40,4 (mittlere Temperatur verschiedener Tage 40). Abfall des Fiebers am 18. März.

Entnahme des Blutes am 9. März = Befund: +
„ „ Milzsaftes „ 9. „ = „ +
„ „ Blutes „ 19. „ = „ —
„ „ Milzsaftes „ 19. „ = „ —

18) L. N., 24 Jahre. Bett No. 28. Eintritt in die Klinik am 28. Febr. Entlassen am 1. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 20. Febr. Besondere Erscheinungen: Laryngo-pharyngitis, katarrhalische Bronchitis. Temp. 39,5. Puls 100. Respiration 20. Höchste Temperatur 39 am 23. Febr. Abfall des Fiebers am 25. Febr.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 22. Febr. = Befund: +
„ „ „ „ 27. „ = „ —

Negative Fälle.

19) R. A., 14 Jahre. Bett No. 36. Eintritt in die Klinik am 20. Febr. Entlassen am 26. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 17. Febr. Besondere Erscheinungen: Laryngo-pharyngitis, katarrhalische Bronchitis. Temp. 39. Puls 88. Respiration 24. Höchste Temperatur 38,5 am 21. Febr. Abfall des Fiebers am 22. Febr.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 21. Febr. = Befund: +
„ „ Milzsaftes „ 21. „ = „ —

20) A. L., 48 Jahre. Bett No. 36. Eintritt in die Klinik am 6. März. Entlassen am 13. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 4. März. Besondere Erscheinungen: Laryngo-pharyngitis, katarrhalische Bronchitis. Temp. 38. Puls 62. Respiration 25. Höchste Temperatur 37. Abfall des Fiebers am 7. März.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 7. März = Befund: —

21) R. D., 22 Jahre. Bett No. 21. Eintritt in die Klinik am 24. Febr. Entlassen am 7. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 20. Febr. Besondere Erscheinungen: Laryngo-pharyngitis. Temp. 37,8. Puls 100. Respiration 24. Höchste Temperatur 36,7. Abfall des Fiebers am 25. Febr.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 24. Febr. = Befund: —

22) J. G., 62 Jahre. Bett No. 15. Eintritt in die Klinik am 4. Jan. Entlassen am 8. Jan. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 3. Jan. Besondere Erscheinungen: Laryngo-pharyngitis, katarrhalische Bronchitis, Pleuritis exsudat. dextra. Temp. 38. Puls 74. Respiration 28. Höchste Temperatur 37,8. Abfall des Fiebers am 6. Jan.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 5. Jan. = Befund: —
„ „ Milzsaftes „ 5. „ = „ —

23) G. L., 17 Jahre. Bett No. 23. Eintritt in die Klinik am 6. Jan. Entlassen am 20. Jan. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 27. Dez. 1905. Besondere Erscheinungen: katarrhalische Laryngo-pharyngitis. Temp. 37,5. Puls 70. Respiration 24. Abfall des Fiebers am 8. Jan.

Entnahme des Blutes am 7. Jan. = Befund: —
„ „ Milzsaftes „ 7. „ = „ —

24) C. G., 52 Jahre. Bett No. 8. Eintritt in die Klinik am 11. März. Entlassen am 15. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 24. Febr. Besondere Erscheinungen: Laryngo-pharyngitis, katarrhalische Bronchitis. Temp. 37. Puls 78. Respiration 22. Abfall des Fiebers am 12. März.

Entnahme des Blutes am 12. März = Befund: —

25) C. E., 34 Jahre. Bett No. 13. Eintritt in die Klinik am 29. Jan. Entlassen am 2. Febr. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 15. Jan. Besondere Erscheinungen: katarrhalische Laryngo-pharyngitis. Temp. 36,5. Puls 64. Respiration 18.

Entnahme des Blutes am 30. Jan. = Befund: —

26) B. M., 39 Jahre. Bett No. 35. Eintritt in die Klinik am 9. März. Entlassen am 19. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 1. März. Besondere Erscheinungen: subakute katarrhalische Enteritis. Temp. 37,2. Puls 72. Respiration 20.

Entnahme des Blutes am 10. März = Befund: —

27) C. V., 38 Jahre. Bett No. 34. Eintritt in die Klinik am 15. Febr. Entlassen am 7. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 12. Febr. Besondere Erscheinungen: katarrhalische Laryngo-pharyngitis. Temp. 37,3. Puls 74. Respiration 22.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 16. Febr. = Befund: —
„ „ Milzsaftes „ 16. „ = „ —

28) B. J., 63 Jahre. Bett No. 32. Eintritt in die Klinik am 20. Febr. Entlassen am 1. März. Beginn der gewöhnlichen Influenzasymptome mit Fieber am 15. Febr.

Besondere Erscheinungen: katarrhalische Laryngo-pharyngitis. Temp. 37,5. Puls 64. Respiration 18.

Die Untersuchung des Auswurfes liefert ein positives Resultat.

Entnahme des Blutes am 21. Febr. = Befund: —
„ „ Milzsaftes „ 21. „ = „ —

Zusammenfassung.

Es wurde also in 28 Influenzafällen der spezifische Bacillus im Blute 18mal gefunden, d. h. im Verhältnisse von 64 Proz.; nicht gefunden wurde er 10mal, d. h. im Verhältnisse von 36 Proz.

In 14 Fällen wurde er in der Milz 8mal gefunden, d. h. im Verhältnisse von 57 Proz.; nicht gefunden wurde er 6mal, d. h. im Verhältnisse von 42 Proz.

In 16 Fällen wurde er im Auswurfe 16mal gefunden, d. h. im Verhältnisse von 100 Proz.

Die positiven Befunde im Blute und im Milzsafte wurden in den Fällen von Influenza erhoben, bei denen die klinischen Symptome charakteristisch, der Verlauf ziemlich schwer war und bronchiale (4), bronchopneumonische (6), intestinale (2), pleurale (2) und peritoneale (1) Lokalisationen bestanden.

In diesen Fällen wurde das Untersuchungsmaterial stets während der fieberhaften Periode der Infektion entnommen, und zwar entweder gleich nach ihrem Anfange (Fall 6, 8, 11, 17, 18) oder auf ihrer Höhe (Fall 2, 3, 4, 7, 9, 10, 12, 14, 15) oder im Beginne der Entfieberung (Fall 1, 5, 13, 16). Eine Ausnahme macht Fall 10, in dem trotz der Fortdauer der Temperaturerhöhung der Befund (2 Untersuchungen) negativ war. In diesem Falle wurde das Fieber jedoch durch eine andere interkurrente (tuberkulöse) Infektion unterhalten.

Die negativen Befunde gehören alle (außer Fall 19) Influenzaformen an, deren Symptome typisch sind, wenn auch ihr Verlauf milde, die Temperatursteigerungen subfebril und kurzdauernd, die katarrhalische Entzündung der obersten Luftwege nur begrenzt und leicht, und die Intoxikationserscheinungen kaum angedeutet sind; oder sie beziehen sich auch auf Influenzaformen (Fall 24 und 26), die zwar nicht ausnehmend milde verliefen, die aber nicht während ihrer aktiven Periode untersucht werden konnten.

Eine andere Reihe von negativen Befunden darf hier nicht vergessen werden; sie ergaben sich, als man bei den 18 ersten Kranken, bei denen der Bacillus während der Fieberperiode gefunden worden war, das Blut und den Milzsaft bei normaler Temperatur untersuchte. Mochte man nun das Untersuchungsmaterial am 3., 2. und 1. Tage der normalen Temperatur oder auch nur wenige Stunden (14, 16) nach dem Abfalle des Fiebers entnehmen, so war es niemals möglich, den spezifischen Bacillus aufzufinden oder zu kultivieren.

* * *

Aus diesen Befunden glaube ich folgendes schließen zu können:

1) Die typischen Formen der wahren epidemischen Influenza werden durch den klassischen Bacillus von Pfeiffer-Bruschettini verursacht.

2) Dieser Bacillus läßt sich stets oder fast stets im Blute der Influenzakranken, die von einer Infektion mit ziemlich schwerem Verlaufe und mit visceralen Lokalisationen befallen sind, nachweisen, wenn man nur das Untersuchungsmaterial während der Fieberperiode entnimmt

und dabei die nötigen technischen Vorsichtsmaßregeln beobachtet, und zwar hinsichtlich der Sterilisation, der Auswahl des Blutgefäßes, der Menge des Blutes und der Art und Weise seiner Gewinnung und späteren Behandlung.

3) Den Bacillus findet man im Milzsafte in allen den Fällen, in denen er im Blute vorkommt, wenn man nur das Material unter den oben erwähnten Bedingungen und Vorsichtsmaßregeln entnimmt.

4) Der Bacillus läßt sich auch bei schwer an Influenza Erkrankten nicht im Blute und im Milzsafte nachweisen, wenn sie bei normaler Körpertemperatur untersucht werden.

5) Der Bacillus kann auch im Blute und in der Milz von Influenzakranken fehlen, die von einer leichten oder ganz leichten Form der Infektion befallen sind.

Auf Grund dieser Schlußfolgerungen aus meinen eigenen Untersuchungen glaube ich mit Sicherheit folgendes behaupten zu können:

Die vielen Kokken, Streptokokken, Mikrokokken, Paratetragenes-Arten, Bacillen, Coccobacillen und Diplobacillen, die eine Rolle in der Aetiologie der typischen Influenza spielen sollten, müssen hier ohne weiteres gestrichen werden.

Die hämophilen Bacillen, die auch aus dem Leichenblute von Kindern isoliert sind, die an Scharlach, Masern, Diphtherie u. s. w. gestorben sind, dürfen nicht als typische aktive Bacillen der Influenza betrachtet werden.

Durch den Nachweis des spezifischen Bacillus im zirkulierenden Blute und in der Milz der Influenzakranken lassen sich viele Krankheitserscheinungen mit sonst ungewisser Pathogenese erklären, und außerdem bildet er für den Kliniker in zweifelhaften und dunkeln Fällen ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel. Der Nachweis des Bacillus kann in der Tat nach 24 Stunden mittels der schnellen Methode (Präparate ohne besondere Vorbereitung aus dem mit Lecithinbouillon gemischten und dann in den Thermostaten gestellten Blute) und nach 36 bis 48 Stunden mittels der langsamen Methode (Verimpfungen von Kulturen) geführt und auf diese Weise jene unbestimmten oder andere Krankheiten vortäuschenden Formen aufgeklärt werden, welche der Arzt sehr häufig beobachten kann, und bei denen er zum großen Schaden der Therapie und Prognose die Diagnose fortwährend unbestimmt lassen muß.

Unter diesen Formen nenne ich als eine der gewöhnlichsten die typhöse, die sich durch ihre allgemeinen und abdominalen Symptome dem wahren Typhus manchmal so nähert, daß auch der erfahrenste Arzt keine sichere Diagnose stellen kann.

Also: ein kleiner Aderlaß und eine gut ausgeführte Blutuntersuchung und die klinische Diagnose ist leicht und exakt gestellt.

* * *

Meine Behauptungen werden vielleicht mit Mißtrauen von denjenigen aufgenommen werden, welche in dieser, ebenso wie in anderen Fragen sich die Pfeiffersche Schule zur Richtschnur nehmen und nun ohne Zögern die Befunde zurückweisen, die den Lehren ihres Meisters widersprechen.

Gerade weil ich dies voraussehe, will ich hier eine Stelle aus der Arbeit Pfeiffers über die Influenza in der Zeitschrift für Hygiene (Bd. XIII. 1893. p. 372) wiedergeben, eine Stelle, die vielleicht übersehen werden kann: „Bei unseren Sektionen habe ich darauf geachtet, und es

ist mir mehrmals in der Tat gelungen, vereinzelte Influenzakolonieen aus Milz und Niere zu züchten." Hieraus geht also klar und deutlich hervor, daß der spezifische Bacillus in den von Pfeiffer sezierten Leichen im zirkulierenden Blute vorhanden und kultivierbar sein oder gewesen sein mußte, weil man ihn sonst nicht aus der Milz und den Nieren hätte isolieren und kultivieren können.

Folgendes ist noch hinzuzufügen: die negativen Befunde in vivo von Pfeiffer selbst und anderen (Voges, Huber) haben keinen absoluten Wert, weil 2 oder 3 Tropfen Blutes aus dem Ohrläppchen ein nur unzureichendes Kulturmaterial bilden, um Bacillen nachzuweisen, die sich schon an und für sich immer nur sehr spärlich im Kreislaufe finden; ferner besteht kein Zweifel über die wahre Natur und Identität der aus dem Blute isolierten Bacillen, weil einige Proben von Koch im Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin kontrolliert und als wahre Influenzabacillen bezeichnet worden sind, und endlich sind die positiven Befunde, die Nauwerck, Leichtenstern, Cornil-Durante, Fränkel, Slawigh, Langer, Trailescu, Jehle, Haedke, Högerstedt u. a. aus den verschiedensten pathologischen Influenzaprodukten (meningealen, pericardialen, Gelenk- und Ohrexsudaten, Gehirnembolis, endocarditischen Vegetationen etc.) erhalten haben, neue und vielfache Beweise für die Zirkulation des spezifischen Bacillus im Blute.

Wer hätte übrigens vor vielen oder wenigen Jahren überall Glauben gefunden, wenn er behauptet hätte, daß der Kochsche Bacillus ziemlich häufig im Blute Tuberkulöser, der Fränkelsche Diplococcus auch oft im Blute von Pneumoniekranken und der Eberthsche Bacillus fast immer im Blute der Typhuskranken zu finden wäre? Und doch sind diese Befunde, die wir nur einfachen Modifikationen der Untersuchung und geistreichen Vervollkommnungen der Technik verdanken, nunmehr unbestreitbare Tatsachen geworden.

Wird schließlich auch die Bacillämie bei Influenza für unanfechtbar gelten?

Wir wollen es hoffen.

Literatur.

Auerbach, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 1904.
Borchardt, Berl. klin. Wochenschr. 1894.
Bruschettini, Riforma medica. 1892. — Arch. sc. med. 1892.
Cantani jun., Riforma med. 1900. — Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1903.
Canon, Virchows Archiv. 1893.
Cornil-Durante, Centralbl. f. Bakt. 1895.
Elmassian, Ann. Inst. Pasteur. 1899.
Fränkel, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XXVII.
Giarrè u. Picchi, Sperimentale. 1903.
Haedke, Centralbl. f. innere Med. 1897.
Högerstedt, St. Petersburger med. Wochenschr. 1896.
Huber, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1893.
Isambert, Thèse de Nancy. 1901.
Jehle, Zeitschr. f. Heilk. 1901. — Wiener klin. Wochenschr. 1899.
Jochmann, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1901—1903. — Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1905.
Leiner, Wiener klin. Wochenschr. 1901.
Leichtenstern, in Nothnagels Spec. Path. Bd. IV.
Letzerich, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1895.
Liebscher, Prager med. Wochenschr. 1903.
Meunier, Arch. génér. de méd. 1900. — Compt. rend. Soc. Biol. 1900.
Nauwerck, Deutsche med. Wochenschr. 1895.
Pacchioni, Sperimentale 1903. — Scritti in onore di C. Bozzolo, Turin 1904.

Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1893.
Pfeiffer u. Beck, Deutsche med. Wochenschr. 1892.
Pfuhl, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1897.
Pielicke, Berl. klin. Wochenschr. 1892; ibid. 1894.
Rosenthal, Thèse de Paris. 1900. — Presse méd. 1901.
Slawigh, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 1899.
Trailescu, Refer. im Centralbl. für Bakt. Bd. XXXII.
Weichselbaum, Wiener klin. Wochenschr. 1892.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLIII. Heft 5.

Die Farbstoffe beim Pyocyaneusbacillus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Albert Ludwigs-Universität Freiburg i. B. (Direktor: Geh. Hofrat Prof. Dr. Schottelius).]

Von **José de Seixas Palma** aus Lissabon.

Mit 1 Tafel.

Es ist schon lange bekannt (Fordos 1860), daß der Bacillus pyocyaneus die Fähigkeit hat, Farbstoffe zu produzieren, die dem Nährboden eine meist blaugrüne bis braune Farbe erteilen. Ich machte nun bei einer Agar-Pyocyaneus-Kultur die Beobachtung, daß sich auf der Oberfläche des Substrates kleine hellgelbe, etwas grünliche, nadelförmige Kristalle abgeschieden hatten, die rosettenförmig angeordnet waren, während der Nährboden selbst dunkelgrün und nach der Oberfläche zu nach einiger Zeit braun gefärbt war (Fig. 1).

Diese Beobachtung veranlaßte mich, die Abscheidungsprodukte des Pyocyaneus weiter zu untersuchen. Ich züchtete zu diesem Zwecke Pyocyaneus, der aus Eiter gewonnen war, auf Glycerinagar von folgender Zusammensetzung: 1 l Bouillonwasser, 10 g Pepton, 5 g Kochsalz, 15 g Agar und 45 g Glycerin.

Diese Kulturen zeigten schon nach wenigen Tagen die bekannte blaugrüne Farbe; nach etwa 2 Wochen konnte man mit bloßem Auge die Kristalle auf der Oberfläche als gelbe Punkte sehen, die sich, unter dem Mikroskop betrachtet, zum größten Teil als hellgelbe, grünliche Nadeln erwiesen (Fig. 2). Läßt man die Kultur sich weiter entwickeln, so wird die grüne Farbe des Nährbodens dunkler und geht allmählich in blaugrün bis braun über.

Zur Gewinnung des Farbstoffes wurde eine große Anzahl von Kulturen in Reagenzgläsern angesetzt, zur Entwickelung 1 Monat lang im Brutschrank gelassen und dann wiederholt mit Chloroform ausgezogen, bis dieses sich in Berührung mit der Kultur nicht mehr färbte. Nach dem Verdunsten der so erhaltenen Lösung hinterblieb eine eigentümlich riechende braungrüne Masse, in welcher der grüne Farbstoff offenbar durch die Einwirkung des Choroforms verändert worden war. Diese Masse wurde dann mit absolutem Alkohol behandelt, wobei der Alkohol grün wurde.

Der ungelöst gebliebene Rückstand wurde wiederholt aus heißem, verdünntem Alkohol umkristallisiert, wobei helle, schwach gelblich gefärbte, kleine Nadeln erhalten wurden, die einen festen Schmelzpunkt von 239° hatten. Dieses Produkt dürfte wohl die Muttersubstanz des Pyocyanins sein, von dem ja auch schon Fordos[1]) vermutet hatte, daß es farblos sei. Es wurden nun einige Versuche gemacht, um die Bedingungen für die Färbung des Pyocyanins festzustellen. Um die Einwirkung des Nährbodens auf die Farbenbildung besser beobachten zu können, wurde Pyocyaneus auf verschiedenen chemischen Nährböden gezüchtet, und es stellte sich heraus, daß weder Schwefel noch Magnesium für die Bildung der grünen Farbe erforderlich ist, was früher behauptet worden war[2]).

1) Fordos, Acad. de scienc. 1860. — Compt. rendus. T. XLVI. 1862. p. 1128.)
2) Kuntze, Zeitschr. f. Hyg. und Infekt. Bd. XXXIV. 1900. p. 169; Noesske ref. Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 874.

Als notwendig für das Wachstum des Pyocyaneus erwies sich nur ein Zusatz von phosphorsaurem Salz (Na_3PO_4), wie schon früher angegeben worden (Gessard, Thumm, Jordan). Hierbei machte sich eine kristallinische Abscheidung von Magnesiumammoniumphosphat bemerkbar.

Es wurden daher einige Versuche mit der gelben Substanz vom Schmelzpunkt 239° gemacht. Da von früheren Beobachtern zur Erklärung der grünen Färbung ein Oxydationsvorgang angenommen wär [1]), so wurde zunächst die Substanz mit einer Reihe von Oxydationsmitteln behandelt, wie Stehenlassen an der Luft, Behandeln mit Salpetersäure und mit Wasserstoffsuperoxyd, jedoch ohne jeden Erfolg. Hierauf wurde sie mit einer Reihe von reduzierenden Substanzen behandelt, und es wurde auch eine grüne Färbung erzielt bei Zusatz von Schwefelammonium oder Schwefelnatrium mit etwas Salzsäure zu der in Wasser suspendierten Substanz. Ebenso bei Zusatz von Thiosulfat mit Säure und besonders gut bei ihrer Behandlung mit Zinnchlorür. Andere Reaktionsmittel jedoch, wie eingeleiteter Wasserstoff, Aluminiumamalgam, Schwefelwasserstoff und schweflige Säure bewirkten keine grüne Färbung. Da sich außerdem diese grünen Färbungen von dem natürlichen Grün des Pyocyaneus dadurch unterscheiden, daß sie sich in Chloroform nicht lösen und auch die rote Färbung mit Säure erst nach längerer Zeit geben, so mußte man schließen, daß die Färbung der Pyocyaneus-Kultur nicht auf einer derartigen Reaktion beruht. Schließlich wurde auch die Einwirkung der Bakterien selbst auf die reine Substanz vom Schmelzpunkt 239° untersucht, und zu dem Zwecke etwas Substanz auf der Oberfläche der Pyocyaneus-Kultur zerrieben.

Es ergab sich die merkwürdige Tatsache, daß hier die Grünfärbung eintrat, sogar bei Anwendung von solchen Pyocyaneus-Kulturen, die infolge zu häufiger Uebertragungen für sich keine grüne Farbe mehr produzieren konnten.

Daraus ergibt sich also, daß keinerlei Einwirkung des Substrats die ausgeschiedene gelbe Substanz grün färbte, sondern nur bei der Berührung mit den Bakterien, und daraus erklärt sich die anfangs gemachte Beobachtung, daß die Kristalle auf der Oberfläche, die durch irgend welche Ursache, vielleicht durch Eintrocknen oder Einschrumpfen des Nährbodens, der Berührung mit den Bakterien entzogen waren, gelb gefärbt blieben. Fordos machte noch die wichtige Beobachtung, daß die grüne Lösung des Pyocyanins leicht durch Reduktion eine gelbliche Substanz abschied, die wahrscheinlich mit unserer entdeckten Substanz vom Schmelzpunkt 239° identisch ist. Er nannte seine gelbliche abgeschiedene Substanz Pyoxanthose.

Durch weitere Untersuchungen wollen wir feststellen, ob beide Substanzen identisch sind und auf was die vier Farbenumschläge gelb → grün → rot → braun beruhen.

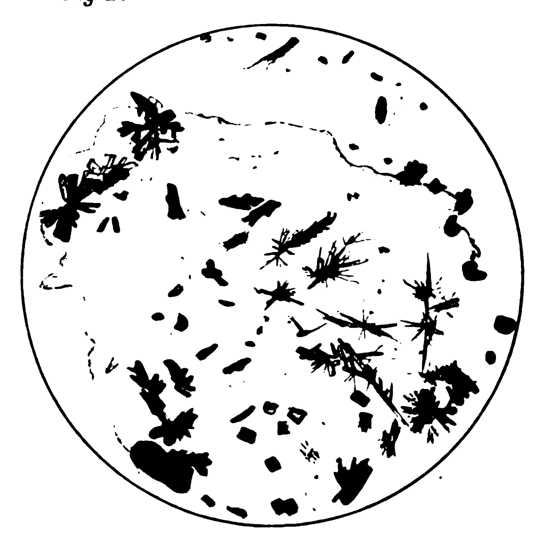
---

1) Wasserzeug, Ann. Pasteur. 1887. p. 581. — Krause, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Bd. XXVII. 1900. p. 773. — Noesske, Literatur schon angegeben.

Fig. 1.



Fig. 2.



Bacillenträger und Disposition am Beispiele des Abdominaltyphus.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Straßburg.]
Von
Prof. Dr. **E. Levy**, Straßburg i. E. u. Oberstabsarzt Dr. **Wieber**, Saarburg i. L.

In den letzten Jahren hat es sich immer mehr herausgestellt, daß beim Zustandekommen von Infektionskrankheiten den gesunden Parasitenträgern eine überaus große Bedeutung zuzuschreiben ist. Wir haben in ihnen wahrscheinlich in letzter Linie die Ursache der jedesmaligen einheimischen, endemischen Infektionskrankheiten zu sehen. Die gewöhnlichen Entzündungs- und Eiterungserreger, Staphylococcus, Streptococcus, Pneumococcus, Coli u. s. w. werden zum Teil regelmäßig in sämtlichen offenen Körperhöhlen gesunder Individuen getroffen. Aber auch spezifische Erreger, z. B. die des Abdominaltyphus, die der Meningitis cerebrospinalis epidemica, die der Diphtherie u. s. w., finden sich bei vollkommen Gesunden vor. Ein Teil dieser Parasitenträger hat die betreffende Infektionskrankheit überstanden und behält deren Erreger gewissermaßen als Ueberbleibsel zurück, der frühere Diphtheriekranke in seinem Munde die Diphtheriebacillen, der frühere Typhuskranke in seinem Stuhl oder Urin die Typhusbacillen. Der Krankheitsanfall kann hierbei sehr leicht verlaufen, ja sogar so leicht, daß er übersehen wird. Der andere Teil der Parasitenträger erwirbt seine Mikroorganismen dadurch, daß er sich in der Umgebung der Kranken aufhält. Die Keime der Parasitenträger vermögen nun unter gewissen Umständen virulent zu werden und sind dann in der Lage, nach zwei Richtungen hin ihre Tätigkeit zu entfalten. Entweder sie infizieren den eigenen Träger wieder (Autoinfektion) oder aber sie werden auf ein neues Individuum übertragen. Bei Infektionen, die keine oder keine langdauernde Immunität hinterlassen, sieht man so bei ein und demselben Menschen dieselbe Krankheit sich oft wiederholen, beim Pneumokokkenträger die Pneumonie, beim Streptokokkenträger das Erysipel, die Angina u. s. f. Daß selbst auch beim Typhus eine Autoinfektion sich ereignen kann, beweist eine von E. Levy und H. Kayser[1]) mitgeteilte Beobachtung. Für die Verbreitung der Krankheit beansprucht selbstverständlich die Uebertragung der von den Parasitenträgern stammenden Mikrobien auf neue Individuen das Hauptinteresse. Allerdings muß betont werden, daß die autoinfizierten Menschen ihrerseits ihre Nebenmenschen anzustecken vermögen.

Die von den Parasitenträgern ausgeschiedenen Mikroorganismen scheinen in der Regel nicht so virulent zu sein, wie die von den Kranken stammenden. Experimentell läßt sich dies leider nicht so leicht beweisen, da für unsere Versuchstiere die Virulenz bei den meisten der in Betracht kommenden Mikroorganismen eine zu schwankende ist. Bei einzelnen, vornehmlich bei den Entzündungs- und Eiterungserregern, glückt dieser Nachweis. Nach den Erfahrungen von E. Levy braucht

1) Levy, E. und Kayser, H., Bakteriologischer Befund bei der Autopsie eines Typhusbacillenträgers. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 50.)

man ganz gewaltige Mengen von den bei Parasitenträgern gewonnenen pyogenen Kokken, um im Tierexperiment Veränderungen zu erzwingen, während, aus den Krankheitsprodukten gezüchtet, diese selben Mikrobien in minimalster Quantität die Tiere zu Fall bringen.

Man geht also wohl kaum fehl, wenn man annimmt, daß die pathogenen Keime der Parasitenträger eine Autoinfektion oder Neuinfektion hauptsächlich auslösen, wenn die Widerstandskraft der betreffenden Individuen durch irgend ein begünstigendes Moment geschwächt ist. In allererster Linie sind hier zu erwähnen die Erkältung, das Trauma, die Störung der Magendarmtätigkeit, das Elend u. s. w., alle die Faktoren, welche man auch in der alten Medizin für das Zustandekommen von Infektionskrankheiten eine so große Rolle spielen ließ. Bei der Uebertragung auf bisher unversehrte Menschen scheint dann weiter noch von Wichtigkeit zu sein, daß die Aufnahme der Keime zu wiederholten Malen stattfindet, d. h. daß die betreffenden Personen längere Zeit mit unvorsichtigen Parasitenträgern in Berührung bleiben müssen. Weiter können durch Vermittelung von Nahrungsmitteln die Träger zu Neuinfektionen Veranlassung geben. Hier walten häufig Verhältnisse ob, die den Anschein erwecken, als ob eine besondere Disposition unnötig wäre. Dies ist der Fall, wenn die Bakterien auf Nahrungsmittel gelangen, die ihnen Gelegenheit bieten, sich ausgiebig zu vermehren (Typhusbacillen in Milch). Das Nahrungsmittel dient dann nicht nur als Vehikel, sondern auch als Kulturmedium. Ungekocht genossen, führt es nunmehr ganz gewaltige Mengen von Bakterien in den Organismus ein und diese ersetzen zum Teil eben durch ihre Zahl das, was ihnen an Virulenz abgeht. Weiß man doch schon längst, daß bei den bakteriellen Infektionen der Zahl der infizierenden Mikroben eine gewaltige Bedeutung zukommt (Chauveau)[1]). Dann ist bei diesen Nahrungsmittelinfektionen noch mit dem Umstande zu rechnen, daß bei ihrem Wachstum die Bakterien Stoffwechselprodukte bilden, welche ihre Infektionstüchtigkeit deutlich erhöhen, wie dies für Typhus- und Paratyphusbacillen von E. Levy und Fornet[2]) bewiesen wurde. Wenn wir von dieser letzten Infektionsart durch Vermittelung von Nahrungsmitteln, wo sich die Mikrobien gewissermaßen selbst begünstigende Faktoren schaffen, absehen, so haben wir sonst wohl stets das Moment der Disposition ins Auge zu fassen. Allerdings wird man in den meisten Fällen nicht in der Lage sein, scharf die begünstigenden Umstände zu bezeichnen. Wir verfügen nun über einen Typhusfall, der einerseits die Infektionsmöglichkeit der Bacillenträger, andererseits die Wichtigkeit der Abschwächung des Organismus, also die Bedeutung der Disposition, klar zu Tage treten läßt.

Unteroffiziersfrau wurde am 1. Oktober 1906 zum ersten Male entbunden, sie erholte sich nach 12 Tagen derart, daß sie aufstand und ihre Hausarbeit verrichtete. Am 21. Oktober 1906 erkrankte sie unter Schüttelfrost, Husten und Durchfall; erst am 25. Oktober 1906 nahm sie ärztliche Hilfe in Anspruch. Außer Fieber und Durchfall war Bronchialkatarrh und ziemlich starker eiteriger Ausfluß aus der Scheide zu konstatieren. Uterus und Adnexe waren normal, Milz nicht palpabel, keine Roseolen. Das Fieber hielt noch 4 Wochen an (Continua mit lytischem Abfall). Der Durchfall machte bald einer hartnäckigen Verstopfung Platz.

1) Chauveau, Compt. rend. de l'Acad. des sciences. 1880.

2) Levy, E. und Fornet, Nahrungsmittelvergiftung und Paratyphus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906.) — Ueber Filtrataggressine. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 26.)

Für die Stellung der Diagnose war die bakteriologische Untersuchung ausschlaggebend. Das Blutserum der Patientin agglutinierte Typhusbacillen im Verhältnis 1 : 200; im Stuhle ließen sich 2mal Typhusbacillen nachweisen, in der Rekonvaleszenz verschwanden sie wieder.

Die Frage der Ansteckung erschien zunächst rätselhaft. Die Familie, die Hausbewohner, die Nachbarschaft waren gesund, desgleichen die Hebamme, die auch weder mit typhuskranken noch -verdächtigen Leuten in Berührung gekommen war. Seit der Geburt weilte nun die Mutter der Patientin zur Pflege im Hause. Sie fühlte sich selbst sehr wohl, kam aber aus einem Dorfe, in welchem im Sommer 1906 Typhusfälle zur amtlichen Anzeige gelangt waren. Auf Befragen gab sie an, daß sie zur Zeit der Heuernte 6 Wochen lang an „Influenza" krank gelegen habe. Da der Verdacht bestand, daß diese Erkrankung Typhus gewesen sein und die Mutter als Bacillenträgerin ihre Tochter angesteckt haben könne, so wurden auch von ersterer Blut und Stuhl bakteriologisch untersucht. Das Serum agglutinierte schwach Typhusbacillen im Verhältnis 1 : 50, im Stuhl fanden sich Typhusbacillen vor. Unsere Vermutung war also bestätigt. Die Wöchnerin war von einer Typhusbacillenträgerin infiziert worden.

Seitdem durch Frosch[1]), Dönitz[2]), Lentz[3]), v. Drigalski[4]), Klinger[5]), H. Kayser[6]) die Wichtigkeit der Typhusbacillenträger in der Epidemiologie des Typhus betont worden ist, haben die Angaben über die Beziehungen der Träger zum Typhus von den verschiedensten Seiten Bestätigung gefunden. In unserem eben beschriebenen Falle kennen wir auch noch die Ursache, welche es ermöglicht hat, daß die Typhusbacillen, welche von einer Gesunden stammten, haften, sich vermehren und so die Infektion auslösen konnten. Im Wochenbette haben wir unbedingt das disponierende Moment zu sehen. Von den alten Aerzten war zwar die Behauptung aufgestellt worden, daß Typhus im Wochenbette nur selten zu beobachten wäre, allein diese Ansicht ist längst als eine irrige nachgewiesen worden (Hecker)[7]). In der vorbakteriologischen Zeit wurden die fieberhaften Zustände, in welchen die klassischen Symptome des Abdominaltyphus, wie ja so häufig, fehlten, einfach als Puerperalfieber gedeutet. Ein Entscheid ist ohne bakteriologische Untersuchung geradezu unmöglich. Deswegen sieht man auch nicht selten von solchen verkannten, für Kindbettfieber gehaltenen Typhen Neuinfektionen ausgehen. Die mit dem hygienischen Institut verbundene Straßburger Anstalt verfügt über 2 Epidemieen in 2 Dörfern, die eine mit 14, die andere mit 11 Fällen, die beide mit aller Sicherheit auf eine typhuskranke Wöchnerin zurückgeführt werden konnten. Beide Male war die Diagnose Typhus nicht gestellt, sondern eine puerperale Affektion

1) Frosch, Ueber regionäre Typhusimmunität. (Festschrift für R. Koch. 1903.)

2) Dönitz, Ueber die Quellen der Ansteckung mit Typhus. (Festschrift für R. Koch. 1903.)

3) Lentz, Ueber chronische Typhusbacillenträger. (Klin. Jahrbuch. Bd. XIV. 1905.)

4) v. Drigalski, Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus nach R. Koch. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV.)

5) Klinger, Ueber Typhusbacillenträger. (Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amte. Bd. XXIV.)

6) Kayser, Ueber die Gefährlichkeit von Typhusbacillenträgern. — Milch und Typhusbacillenträger. (Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amte. Bd. XXIV.)

7) Hecker, zitiert nach Eichhorst, Handbuch der speziellen Pathologie u. Therapie. 4. Aufl. p. 354.

angenommen worden. In beiden Epidemieen lag die Vermutung nahe, daß die Wöchnerinnen durch Träger angesteckt wurden, da in dem ununmittelbar daneben sich befindlichen Nachbardorf kurze Zeit vorher Typhus geherrscht hafte. Es glückte aber nicht so wie im eben besprochenen Falle, die betreffenden Bacillenträger herauszufinden.

Ueber Versuche mit Tuberkelbacillenstämmen menschlicher Herkunft an Schlangen und Blindschleichen und über Mutationen menschlicher Tuberkelbacillen.

[Aus der Heilanstalt Alland bei Baden (Niederösterreich).]

Von

Privatdozent Dr. **Josef Sorgo**, und Dr. **Erhard Suess**,
Chefarzt der Heilanstalt. I. Hausarzt der Heilanstalt.

Die Frage, ob die Bacillen der Warmblütertuberkulose im stande sind, im Kaltblüterorganismus tuberkulöse Veränderungen hervorzurufen, oder die Charaktere der sogenannten Kaltblütertuberkelbacillen anzunehmen, schien durch die umfassende Arbeit von Weber und Taute aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte im negativen Sinne entschieden. Nach Besprechung der einschlägigen Literatur erachten die Autoren bisher nur bewiesen, daß 1) Tuberkelbacillen (Tb.), in den Kaltblüterorganismus eingebracht, eine bestimmte Zeit am Leben und für Meerschweinchen virulent bleiben; 2) daß in den Organen von Kaltblütern, die mit Tb. geimpft worden sind, sich säurefeste Stäbchen finden können, die am besten bei niedriger Temperatur wachsen und für Meerschweinchen nicht pathogen sind. Sie erachten jedoch als nicht erwiesen, daß die letzteren, aus dem Kaltblüterorganismus stammenden säurefesten Stäbchen durch Umwandlung aus den eingeimpften Tb. hervorgegangen sind. Sie glauben sich vielmehr durch die Resultate ihrer Versuche berechtigt, anzunehmen, daß es sich in allen bisher mitgeteilten Fällen gelungener Umwandlung von Säugetiertb. in Kaltblütertb. um säurefeste, saprophytische Keime handelt, die sich sehr häufig in den Organen von Fröschen finden, ohne dieselben im geringsten zu schädigen.

Der Nachweis, daß sich in einem ziemlich großen Prozentsatze aus der Leber von Fröschen, die niemals mit Tb. geimpft worden waren, Kaltblütertb. züchten lassen, ist das wertvollste Ergebnis der Arbeit von Weber und Taute. Die positiven Ergebnisse von säurefesten Stäbchen bei Untersuchung des Schlammes von Süß- und Seewasserbassins weisen auf die Quelle hin, aus welcher die im Wasser lebenden Kaltblüter säurefeste Stäbchen in sich aufnehmen können, und das mit der Außenwelt kommunizierende Lymphsystem des Frosches läßt unter diesen Umständen den von Weber und Taute erhobenen Befund verständlich erscheinen. Die säurefesten Stäbchen im Kaltblüterorganismus betrachten demnach Weber und Taute als Saprophyten, die nur ausnahmsweise im Kaltblüterorganismus zu üppigem Wachstum gelangen, nämlich dann, wenn durch einen lokalen oder allgemeinen Krankheitsprozeß die Widerstandskraft des Organismus herabgesetzt ist.

Seither berichtete auch Küster in einer größeren Arbeit über

Kaltblütertb. über eine Reihe von einschlägigen Versuchen. Die ausführlichen Literaturbesprechungen in dieser Arbeit und in der besprochenen Arbeit von Weber und Taute entheben uns der Aufgabe, auf die vor dem Erscheinen dieser Arbeiten ausgeführten Versuche neuerlich des genaueren einzugehen.

Küster konnte nach Impfung von Fröschen, Eidechsen und Ringelnattern mit Menschentb. und Hühnertb. tuberkulöse Organveränderungen konstatieren und aus denselben Bacillen züchten, die mit den Bacillen der Froschtb. morphologisch und kulturell identisch waren. Er hält jedoch die Anzahl seiner Versuche für noch zu gering, um über die Frage der Umwandlung von Warmblütertb. in Bacillen der Kaltblütertuberkulose zu entscheiden. Es erscheint ihm zu gewagt, anzunehmen, daß eine einmalige Kaltblüterpassage zu einer so weitgehenden Umwandlung der Warmblütertb. genüge, wenngleich die Versuche mit Hühnertb. bei höheren Warmblütern und die in weiten Grenzen schwankende Virulenz der Tb. eine große Biegsamkeit vermuten ließen. Es ist auch unsere Ansicht, daß die Versuche Küsters nicht hinreichen, die in Rede stehende Frage zu entscheiden, aber nicht, weil, wie Küster meint, seine Versuchsreihe zu wenig ausgedehnt ist, sondern weil, wie noch zu besprechen sein wird, seine Versuchsanordnung Einwände zuläßt.

Die Tatsache, daß Weber und Taute auch in nicht geimpften Fröschen säurefeste Bacillen nachweisen konnten, allerdings ohne mit denselben tödliche Infektionen hervorrufen zu können, und der Nachweis der gleichen Bacillen in Moos, Schlamm, Erde etc. mahnt zur berechtigten Skepsis gegen alle bisher mitgeteilten positiven Umzüchtungsresultate; sie zeigt jedoch auch, daß zu Umzüchtungsversuchen ein solches, derart mit säurefesten Bacillen verseuchtes Material, wie die Frösche Webers und Tautes, nicht verwendbar sein kann. Gewiß gelten diese Befunde nicht für Frösche jeglicher Provenienz. Küster fand z. B. unter 200 Fröschen nur einmal säurefeste Bacillen ohne pathologische Veränderungen des Trägers und nur in 3 Fällen, d. i. 1,5 Proz. der untersuchten Frösche, spontane Froschtuberkulose. Die Fehler, welche durch saprophytische säurefeste Bacillen oder durch spontane Tuberkulose bei Umzüchtungsversuchen positive Resultate vortäuschen, dürften voraussichtlich — größere Zahlen von Beobachtungen liegen in dieser Hinsicht nicht vor — noch geringere sein bei Verwendung von Tierarten, die, wie die Fische und Schlangen, vor natürlicher perkutaner Infektion beträchtlich mehr geschützt sind als Frösche.

Der wesentlichste Vorteil jedoch, den die Verwendung von Schlangen oder Blindschleichen mit sich bringt, ist die Möglichkeit subkutaner Impfung und der Rückzüchtung der geimpften Bacillen aus der Impfstelle, ein Verfahren, das bei Fröschen wegen der weiten Kommunikationen der subkutanen Lymphsäcke nicht in gleich einwandsfreier Weise durchführbar ist.

Diese und andere Gründe haben uns bewogen, bei den nachfolgend mitgeteilten Versuchen, welche schon mehrere Monate vor dem Erscheinen der Arbeit Weber und Tautes begonnen worden waren, und welche dahin gerichtet waren, den Nachweis zu bringen, ob Tb. menschlicher Provenienz die Fähigkeit besitzen, sich an den Kaltblüterorganismus anzupassen, eine Versuchsanordnung zu treffen, welche aus den positiven oder negativen Ergebnissen möglichst einwandsfreie Schlüsse zu ziehen gestatten sollte.

Wir verwendeten zu unseren Versuchen ausschließlich Schlangen

und Blindschleichen, da, wie oben besprochen, Frösche ein durchaus ungeeignetes Material darstellen. Schlangen und Blindschleichen unterliegen nicht so leicht wie der Frosch, mit seinem ausgedehnten, mit der Außenwelt kommunizierenden Lymphsystem, einer perkutanen, natürlichen Infektion, und lassen sich vor derselben um so leichter schützen, als es nicht schwer fällt, sie infolge ihrer Lebenszähigkeit viele Monate in Kisten oder Laden lebend aufzubewahren, welche frei sind von jedem säurefeste Stäbchen beherbergenden Materiale, wie Moos, Schlamm und Gras, wodurch auch eine Aufnahme dieser Mikroben per os zur Zeit ihrer Gefangenschaft ausgeschlossen ist. Eine Nahrungsinfektion während dieser Zeit dürfte bei diesen Versuchstieren kaum je zu gewärtigen sein, da sie entweder gar nicht fressen, oder diejenigen, welche fressen, von uns ausschließlich Mäuse erhielten, also eine Nahrung, die wohl sicher nicht in Betracht kommt als Träger säurefester Stäbchen vom Typus der Kaltblütertb.

Es ist von vornherein, auch ohne die vorliegenden zahlreichen negativen Versuchsresultate, nicht anzunehmen, daß Uebertragungsversuche von Warmblütertb. auf Kaltblüter in einem erheblichen Prozentsatz positive Resultate geben sollten. Wir werden die Gründe noch in unseren theoretischen Auseinandersetzungen besprechen. Da gegen die Uebertragungsmöglichkeit noch so viele negative Resultate nichts beweisen, andererseits wenige einwandsfreie positive Ergebnisse die Frage prinzipiell entscheiden, so ist es geboten, die Versuchsanordnung sowohl hinsichtlich des zu infizierenden Tieres, als hinsichtlich des zu verwendenden Infektionsmaterials so zu wählen, daß möglichst günstige Bedingungen für den positiven Ausfall der Versuche geschaffen werden.

Auch in dieser Hinsicht scheinen uns Schlangen ein zu bevorzugendes Versuchsmaterial zu sein. Die nach unseren Erfahrungen zumeist fehlende, immer sehr unzureichende Nahrungsaufnahme seitens der von uns verwendeten Schlangenarten [Ringelnattern (*Tropidonotus natrix*), Aeskulapschlangen (*Coluber Aeskulapii*) und Zornnattern (*Zamenis viridiflavus*)] kann nicht verfehlen, während der monatelangen Gefangenschaft des infizierten und nichtinfizierten Tieres die Widerstandskraft desselben herabzusetzen und es für Infektionen empfänglicher zu machen. Wir wissen, daß für einen großen Teil der Infektionserreger scheinbar immune Tiere durch ausgiebiges Hungern empfänglich gemacht werden können, wie z. B. Hühner für Milzbrand. Der Gedanke ist daher nicht abzuweisen, daß wir unsere positiven Versuchsergebnisse zum Teil diesem Umstande, der durch Hungern sich steigernden Disposition für Infektion, verdanken.

Für die Verwendung von Schlangen statt Fröschen ließe sich ferner der Umstand anführen, daß erstere dem Menschen entwickelungsgeschichtlich näher stehen, und daher die Möglichkeit, sie mit einem nur dem Menschen angepaßten Mikroorganismus zu infizieren, bei Schlangen theoretisch größer ist als bei Fröschen.

Möglichst günstige Bedingungen für den positiven Ausfall der Versuche glaubten wir auch durch entsprechende Wahl respektive Vorbereitung des Impfmateriales zu schaffen, und darin liegt der erste wesentliche Unterschied unserer Versuche von den bisher unternommenen.

Schon Züchtungsversuche auf künstlichen Nährböden zeigen, daß der menschliche Tb. oft einen hohen Grad von Empfindlichkeit gegenüber Aenderungen des Nährsubstrates besitzt, und dadurch in der Ueppig-

keit seines Wachstums außerordentlich beeinflußt werden kann. Es sei nur hingewiesen auf die Tatsache, daß bei längerer Fortzüchtung des Bacillus auf demselben Nährboden Uebertragungsversuche auf andere Nährböden nicht selten fehlschlagen, oder daß auf der neuen Nährbodenart der Bacillus zunächst ein kümmerliches Wachstum zeigt und erst bei Weiterzüchtung auf derselben üppiger gedeiht. Namentlich augenfällig tritt dies in Erscheinung, wenn auf Serum- oder Eiernährböden fortgezüchtete Tb. auf Glycerinagar übertragen werden. Auch an letzteren Nährboden gewöhnte vertragen häufig nur schlecht die ihnen sonst so zusagenden Serumnährböden. Auf den bekannten Einfluß wechselnder Temperaturen des Brutschrankes auf die Ueppigkeit des Wachstums der Bacillen sei nur kurz hingewiesen. Ein weiteres schönes Beispiel liefern Hesses Untersuchungen über den Einfluß des Alkaleszenzgrades des Sputums auf das Gedeihen der Tb. Diese Hinweise genügen, um es als unwahrscheinlich erscheinen zu lassen, daß der Warmblütertb. einen solchen Sprung aushalten sollte, wie er bei Uebertragung in einen Kaltblüterorganismus gegeben ist durch die Temperaturdifferenz des Wirtes und den Nährbodenwechsel in einen noch dazu mit aktiven Abwehrkräften ausgestatteten Organismus. Selbst wenn man die Anpassungsmöglichkeit im Prinzipe zugibt, wird man zugestehen müssen, daß nur besonders widerstands- und anpassungsfähige bacilläre Individuen einen solchen Wechsel der äußeren Lebensbedingungen schadlos ertragen werden und in dem neuen Wirt sich werden vermehren und pathologische Veränderungen werden erzeugen können.

Diesen Wechsel der äußeren Lebensbedingungen weniger extrem zu gestalten, glaubten wir auf die Weise zu erreichen, daß wir, mit zwei Ausnahmen, zu unseren Versuchen nur Tb.-Kulturen verwendeten, welche, nachdem sie im Brutschranke üppig angegangen waren, monatelang in mit Guttaperchapapier verschlossener Eprouvette und vor hellem Lichte geschützt bei Zimmertemperatur gehalten worden waren. Wir glaubten hierdurch zweierlei zu erzielen: einerseits die Gewöhnung an niedere und inkonstante Temperaturen, andererseits die Gewöhnung an einen sich durch allmähliche Austrocknung und vielleicht auch durch chemische Umsetzung verschlechternden Nährboden, im Vergleiche zu welchem der Kaltblüterorganismus eventuell als guter Nährboden bezeichnet werden dürfte. Die Annahme ist gerechtfertigt, daß bacilläre Individuen, welche unter diesen ungünstigen Verhältnissen überleben und ihre Wachstumsfähigkeit nicht einbüßen, geeigneter sein werden, im Kaltblüterorganismus weiter zu kommen und pathologische Veränderungen zu erzeugen, als junge dem Brutschrank entnommene Stämme.

Ein drittes nach unserem Dafürhalten wesentliches Moment unserer Versuchsanordnung bestand in der subkutanen Einbringung unseres Impfmateriales. Nur die subkutane Impfung ermöglicht die Entscheidung, ob die aus tuberkulösen Organveränderungen gezüchteten Tb. von den einverleibten Bacillen stammen.

Und nur durch diese Identifizierungsmöglichkeit ist die weitere Frage entscheidbar, ob vorgefundene tuberkulöse Veränderungen zur künstlichen Infektion in Beziehung stehen. Zunächst ergeben schon verkäsende Prozesse an der Impfstelle den Anhaltspunkt für die, wenn vielleicht auch noch so geringe und über die Eintrittsstelle sich nicht hinaus erstreckende, pathogene Wirkung. Sodann kann der aus event. käsigen Veränderungen der Impfstelle gezüchtete Tb. mit allergrößter

Wahrscheinlichkeit als identisch mit dem einverleibten angesehen werden. Derartig gewonnene Kulturen sind wohl das einwandfreieste Material zur Entscheidung in welchen Grenzen sich der menschliche Tb. im Kaltblüterorganismus morphologisch, kulturell und in seinen pathogenen Eigenschaften abzuändern vermag. Sind außerdem noch tuberkulöse Veränderungen der inneren Organe vorhanden, so kann deren Entstehung nach zwei Richtungen hin aufgedeckt werden. Erstens durch den Vergleich der aus ihnen gewonnenen Kulturen mit den aus der Impfstelle erhaltenen, zweitens durch die Art der Ausbreitung und das mutmaßliche Alter der einzelnen tuberkulösen Veränderungen. In letzterer Hinsicht dürften sich wohl oft ziemlich sichere Urteile fällen lassen: wenn z. B. viele Wochen nach der Infektion eine generalisierte miliare Tuberkulose gefunden wird, und außer der verkästen Impfstelle kein älterer tuberkulöser Krankheitsherd ausfindig gemacht werden kann, ist die experimentelle Tuberkulose mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, besonders wenn die Eigenschaften der Kultur in demselben Sinne sprechen. Im übrigen lassen sich natürlich zur Entscheidung der Frage, ob spontane, ob Impftuberkulose keine allgemein gültigen Grundsätze aufstellen, sondern es muß eben jeder einzelne Fall nach seinen Eigentümlichkeiten pathologisch-anatomisch und bakteriologisch beurteilt werden.

Zu den nach den oben skizzierten Gesichtspunkten vorgenommenen Versuchen waren 6mal aus Sputum gezüchtete Tb.-Stämme verwendet worden, die auch bereits eine Meerschweinchenpassage durchgemacht hatten; einmal ein aus Sputum gezüchteter Stamm und 3mal aus Pleuraexsudaten gezüchtete Stämme ohne Tierpassage. Das Alter der verwendeten Stämme schwankte zwischen 6 und 18 Monaten, und die Zeit des Aufenthaltes bei Zimmertemperatur zwischen 3 und 15 Monaten. Die einmalige Ueberimpfung jedes einzelnen dieser Stämme auf je zwei Glycerinagarröhrchen ergab weder bei Brutschrank- noch bei Zimmertemperatur Wachstum. Wir glauben aber nicht, daß sich aus diesen negativen Kulturergebnissen ein bindender Schluß auf die Wachstums- respektive Lebensfähigkeit dieser Stämme ziehen läßt, da zur Kultivierung immer nur eine sehr geringe Kulturmasse zur Verwendung kommt, und nach unseren Erfahrungen auf dem Glycerinagarnährboden das Wachstum von Tb. sehr häufig versagt. Als Beweis für die Lebens- und Vermehrungsfähigkeit trotz Ausbleibens des Wachstums auf Glycerinagar sei hier schon auf den später zu besprechenden Fall I verwiesen, bei welchem der zur Impfung verwendete Stamm auf Glycerinagar nicht wuchs, wohingegen aus den tuberkulösen Veränderungen des Impftieres der Stamm im Brutschranke fast unverändert zurückgezüchtet werden konnte.

Die Versuche erstreckten sich auf 20 Schlangen der erwähnten Gattungen und auf 2 Blindschleichen. Die Tiere wurden von einem Gehilfen gestreckt gehalten, damit nicht durch die Krümmungen des Körpers die Nadel in die Tiefe gestoßen werde, und jedes Tier erhielt nun 2 ccm in physiolog. Kochsalzlösung fein verteilter Kulturmasse subkutan injiziert. Die Haut der Impfstelle wurde nach der Impfung mechanisch gut gereinigt.

Vier Schlangen und zwei Blindschleichen ergaben bei der Autopsie tuberkulöse Veränderungen und lieferten uns positive Züchtungsresultate; diese werden nachstehend im einzelnen einer genauen Besprechung unterzogen werden. Vorher seien die negativen Obduktionsergebnisse und

einige wenige Fälle mit geringen tuberkulösen Veränderungen, die ein negatives Züchtungsresultat lieferten, kurz besprochen, und zwar insbesondere mit Hinsicht auf die Frage der spontanen Tuberkulose bei dem verwendeten Tiermateriale.

Vollständig negativen Befund ergaben: 10 Schlangen und zwar 2 Aeskulapschlangen, 4 Ringelnattern und 4 Zornnattern. Von diesen Tieren waren 2 innerhalb 6 resp. 13 Tagen, 3 innerhalb 42—46 Tagen, 5 innerhalb 118—155 Tagen nach der Impfung spontan eingegangen. Der Autopsiebefund war bei diesen ein vollständig negativer, und auch die Impfstelle war infolge Fehlens jeglicher pathologischer Veränderung nicht mehr auffindbar. Die inneren Organe waren sowohl an ihrer Oberfläche wie an Durchschnitten bei 6-facher Lupenvergrößerung durchmustert worden, und in jedem Falle waren aus der Leber, dem häufigsten Aufenthaltsorte säurefester Stäbchen, nach Ziehl gefärbte Strichpräparate mikroskopisch untersucht worden. Bei dreien dieser Schlangen waren einmal von der Leber, einmal von Milz, Leber, Hoden und Haut, einmal von Leber, Ovarium und Herzmuskel histologische Präparate angefertigt worden, welche, abgesehen von Nekroseherden, die in der Leber des letzterwähnten Tieres sich fanden und durch einen in massenhafter Menge vorhandenen langen, dicken, nicht säurefesten Bacillus bedingt zu sein schienen, sowohl in Hinsicht auf pathologische Veränderungen wie bakteriologisch ein durchaus negatives Resultat ergaben.

Bei vier weiteren Schlangen, welche 31—80 Tage nach der Impfung eingegangen waren, dienten als Impfmaterial 5—16 Monate alte Kulturen, welche 3½—12 Monate der Zimmertemperatur ausgesetzt waren. Die Kulturen waren aus Sputum gezüchtet worden, und drei derselben hatten bereits eine Meerschweinchenpassage durchgemacht. Die inneren Organe waren, mit der Lupe untersucht, frei von tuberkulösen Veränderungen und im Strichpräparate auch frei von säurefesten Stäbchen. In Leberschnitten fand sich je einmal Nekrose und fettige Degeneration bei reichlichem Vorkommen des oben erwähnten nicht säurefesten Bacillus. Hingegen bot die Impfstelle in jedem dieser vier Fälle deutliche Verkäsung dar. In dem Käse wurden gut erhaltene Tb. in ziemlich beträchtlicher Menge vorgefunden. Aus dem Käse angelegte Kulturen blieben 2mal steril, und waren in zwei Fällen durch Begleitbakterien (Kokken) verunreinigt. Von zweien dieser Tiere wurde der Käse in physiologischer Kochsalzlösung emulgiert, je einer Schlange subkutan einverleibt. Beide Schlangen, welche nach 37 resp. 82 Tagen eingingen, boten sowohl hinsichtlich der Impfstellen als der inneren Organe bei Lupenvergrößerung wie in Strichpräparaten einen durchaus negativen Befund.

Ein anderes Exemplar (Ringelnatter, geimpft mit einer 5 Monate alten, 3 Monate bei Zimmertemperatur gehaltenen Sputumkultur) ließ nach seinem Tode nach 62 Tagen die Impfstelle nicht mehr erkennen und ebensowenig tuberkulöse Veränderungen der inneren Organe. Die Leber war durchsetzt von grauweißen, konkrementartigen Einlagerungen und bot histologisch fettige Nekrose dar, neben den erwähnten nicht säurefesten dicken Bacillen. In Strichpräparaten fanden sich neben denselben äußerst spärliche säurefeste Stäbchen, die im Schnitte bei Ziehlscher Färbung nicht auffindbar waren. Eine Kultur war nicht versucht worden wegen des ganz außerordentlichen Ueberwiegens der nicht säurefesten dicken Bacillen.

Eine mit einer 9 Monate alten und 7 Monate bei Zimmertemperatur gehaltenen Tb.-Sputumkultur geimpfte Zornnatter ging nach 27 Tagen ein, und bot folgenden Befund: Impfstelle verkäst mit außerordentlich reichlichen, gut erhaltenen säurefesten Stäbchen, und längs der Wirbelsäule sowie im Mesenterium zahlreiche ca. stecknadelkopfgroße, absceßartige Herde, deren Inhalt aus einem eitrigen Detritus bestand und ziemlich reichlich säurefeste Stäbchen beherbergte. Ein histologischer Befund liegt nicht vor. Kulturen, aus mehreren Abscessen in größerer Zahl angelegt, blieben sowohl bei Zimmertemperatur als auch im Brutschrank steril, auf den von der Impfstelle beschickten Kulturen wuchsen Kokken und Schimmelkolonieen.

Die bisher aufgezählten, zum überwiegenden Teile negativen Befunde erfordern gleichwohl eine kritische Besprechung in Hinsicht auf die Häufigkeit einer spontanen Tuberkulose bei Schlangen und in Bezug auf das Vorkommen säurefester Stäbchen in pathologisch nicht veränderten Organen.

Zur Beantwortung dieser Frage steht uns zur Verfügung, außer den eben besprochenen 16 mit menschlichen Reinkulturen und den beiden mit käsigen Produkten von Impfstellen geimpften Schlangen, noch folgendes verwertbare Material:

Drei der folgenden Versuchsreihe angehörige Schlangen, welche mit aus geimpften Schlangen gewonnenen Reinkulturen injiziert worden waren und sich bei der Autopsie als vollkommen frei von tuberkulösen Veränderungen und von säurefesten Stäbchen überhaupt erwiesen;

Zwei Ringelnattern, welche mit Tb. nicht menschlicher Provenienz (Bacillus pseudotuberculosis Rabinowitsch u. Bacillus tuberculosis equi aus dem Králschen Laboratorium) geimpft worden waren und einen ebenso negativen Befund boten, und eine Ringelnatter, die mit einem Bacillus aus der Pseudodiphtheriegruppe erfolglos infiziert worden war.

Hierzu kommen fünf nicht geimpfte, spontan eingegangene Schlangen, von denen vier negativen pathologischen und bakteriologischen Befund darboten, während in der Leber der fünften mit der Lupe einzelne kleinste, graue Knötchen entdeckt wurden, aus denen sich bei Zimmertemperatur auf allen beschickten Röhrchen reichlich säurefeste Bacillen in Reinkultur züchten ließen. Die Kulturen boten die bekannten, charakteristischen Merkmale der Kaltblütertb. Die biologischen Eigenschaften dieses Stammes werden noch Gegenstand einer separaten Mitteilung sein. Das gibt in Summe ein für die obige Frage verwertbares Material von 27 Schlangen. Von diesen scheiden 20 mit vollkommen negativem bakteriologischen und pathologisch-anatomischen Befunde aus. Auch bei den 4 mit menschlicher Tuberkulose geimpften Schlangen, bei welchen sich ausschließlich auf die Impfstelle beschränkte Veränderungen fanden, kann eine spontane Tuberkulose und das Vorkommen saprophytischer säurefester Stäbchen ausgeschlossen werden.

Bei jener Schlange, in deren Leber bei Abwesenheit jeglicher tuberkulöser Veränderung äußerst spärliche, säurefeste Stäbchen in Strichpräparaten gefunden wurden, liegt es nahe, daran zu denken, daß dieselben Reste des eingeimpften Bacillenmaterials darstellten. Diese Vermutung gründet sich auf Untersuchungen von Lubarsch und von Herzog, welche bei Fröschen eine sehr rasche Verschleppung von eingeimpften Warmblütertb. in sämtliche innere Organe feststellten, und nachwiesen, daß in den Organen nach 6—8 Wochen im Brutschranke

wuchstumsfähige (Lubarsch) ja selbst noch nach 190 Tagen für Warmblüter virulente (Herzog) Tb. sich vorfinden können. Auch der positive Befund jener oben besprochenen Zornnatter, welche mit einer Reinkultur menschlicher Tb. injiziert worden war und neben der verkästen Impfstelle Abscesse im Mesenterium und längs der Wirbelsäule mit reichlichen säurefesten Bacillen aufwies, kann nicht ohne weiteres im Sinne einer spontanen Erkrankung gedeutet werden. Im Gegenteile könnte der Umstand, daß trotz des reichlichen Vorkommens säurefester Stäbchen die Kultivierung derselben auf verschiedenen Nährböden auch nicht bei Zimmertemperatur gelang, zusammengehalten mit der Erfahrung, daß die Bacillen der Kaltblütertuberkulose auf allen Nährböden leicht und üppig gedeihen, eine nicht zu unterschätzende Stütze für die Ansicht bieten, daß die pathologischen Veränderungen im vorliegenden Falle durch die eingebrachten Bacillen hervorgerufen seien. So bleibt von den 30 Schlangen eine übrig mit zweifelloser spontaner Tuberkulose. Man kann demnach sagen, daß wenigstens unsere hiesigen Schlangen von Tuberkulose nicht so durchseucht sind, daß sie ein absolut unbrauchbares Material abgeben würden und daß auch das Vorkommen saprophytischer säurefester Stäbchen unter ihnen nicht verbreitet zu sein scheint. Es wurden auch im Darminhalte der geimpften Tiere niemals säurefeste Stäbchen gefunden. Daß in unserer Gegend säurefeste Stäbchen nicht häufig sind, dafür spricht des weiteren das negative Resultat, welches bei der Untersuchung von 15 Karpfen aus einem schlammreichen Teiche erzielt wurde. Bei jedem Exemplar wurde ein Ausstrichpräparat der Leber, bei vielen auch andere Organe und insbesondere der Darminhalt daraufhin untersucht. Daß vielleicht auch in Bezug auf Schlangen diesbezüglich große örtliche Verschiedenheiten bestehen dürften, wird durch die eingangs erwähnten gegensätzlichen Befunde von originärer Tuberkulose und von säurefesten Saprophyten bei den Fröschen Webers und Tautes einerseits und Küsters andererseits nahegelegt. Es sei nur darin erinnert, daß alle vier positiven Fälle Küsters Frösche ein und desselben Fundortes betreffen.

Die nun folgenden Befunde erscheinen uns interessant genug, um eine detaillierte Besprechung jedes einzelnen Falles zu rechtfertigen.

I.

Eine Blindschleiche (Bl. 3) wurde am 6. Juni 1905 mit Reinkultur subkutan geimpft. Die Kultur war aus Sputum gewonnen worden, hatte danach eine zweimalige Meerschweinchenpassage durchgemacht, und war zuerst aus der Milz, das zweite Mal aus der Axillardrüse zurückgezüchtet worden. Die verwendete Kultur war eine 9 Monate alte Glycerinagarkultur, welche $6^1/_2$ Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrt worden war und bereits das rötlichbraune und etwas schmierige Aussehen älterer Kulturen bot. Sie enthielt mikroskopisch schlanke, säurefeste, neben nicht mehr säurefesten, blaßblauen Tb.

Die Blindschleiche ging ein nach 24 Tagen.

Autopsiebefund: Impfstelle verkäst. An der inneren Seite der Rippen, subpleural gelegen, der Impfstelle entsprechend mehrere konfluierende grauweiße hirsekorngroße verkäsende Knötchen. Im Strichsaft der Impfstelle und der Knötchen ziemlich zahlreiche lange säurefeste Stäbchen. Die Leber war durchsetzt von einer Anzahl bis über stecknadelkopfgroßer, prominenter, wasserheller Knötchen und von einer großen

Zahl kleinster heller Punkte, in deren Strichsaft sehr zahlreiche lange, zum Teil unregelmäßig verdickte, zum Teil verzweigte säurefeste Stäbchen sich fanden. Dem Mesenterium aufgelagert einzelne weiche, gelblich-weiße Knötchen mit zahlreichen säurefesten Stäbchen von demselben Aussehen wie jene in der Leber.

Histologisch erwiesen sich die Knötchen als im Zentrum verkäste, an der Peripherie von Epitheloidzellen ähnlichen Zellen gebildete Herde, die sich vom umgebenden normalen Lebergewebe ziemlich scharf abgrenzten und namentlich in ihrem Zentrum zahlreiche lange Tb. enthielten. Die mesenterialen Knötchen bestanden aus Leukocyten und Erythrocyten mit zahlreichen intra- und extracellulär gelegenen Tb.

Kulturen aus Leberknötchen blieben bei Zimmertemperatur auf Somatoseagar, Glycerinagar und schräg erstarrtem Eiernährboden steril. Ebenso das Glycerinagarröhrchen im Brutschrank. Hingegen wuchsen im Brutschrank auf Somatoseagar und Ei zahlreiche Tb.-Kolonieen in Reinkultur.

Die Kulturen boten folgende Merkmale: Auf Agar und auf Glycerinagar spärliches, warzig trockenes Wachstum. Auf Somatoseagar spärliches Wachstum in Form von weißen, flachen, schuppigen, trockenen Auflagerungen. Auf Glycerin-, Rinder- und Schweineserum entsteht ein trockener, bald warzig krümeliger oder knolliger, bald mehr schuppiger, weißer, trockener Belag.

Auf Kartoffel-Glycerinagar bräunliche Warzen.

Auf schräg erstarrtem Ei ein trockener, krümelig-warziger Belag von gelblich-weißer, einmal ins Rötliche spielender Farbe.

Ueberimpfungen der im Brutschrank gewonnenen Kulturen blieben bei Zimmertemperatur steril. Die Tb. sind in jungen Kulturen bald gleichmäßig kurz, bald lang und schlank, gerade und gekrümmt.

Mit diesem Stamme wurden geimpft:

1) Eine Maus (Ms. 12) mit $^1/_2$ ccm einer Aufschwemmung einer 4 Wochen alten Eierkultur in die Schwanzwurzel.

Getötet am 18. April 1906, negativer Befund.

2) Ein Meerschweinchen (M. 144) mit 5 ccm derselben Aufschwemmung subkutan am Rücken. Tod nach 25 Tagen. Autopsie: Verkäsung der Impfstelle, Schwellung und Verkäsung der axillaren und submentalen Drüsen. Sulzige, braunrötliche, unter der Lupe gekörnte eingesunkene Herde im Unterlappen der rechten Lunge. Milz und Leber stark vergrößert und wie marmoriert von kleineren und größeren, unregelmäßigen, grauweißen Herden. Kein Ascites. In allen Krankheitsherden mikroskopisch Tb. in geringer Menge. Aus der Impfstelle, der Leber und der Milz dieses Meerschweinchens wurde bei Brutschranktemperatur je ein Tb.-Stamm gezüchtet, mit denselben kulturellen Merkmalen wie der oben beschriebene Stamm.

Mit fein verriebenen mesenterialen Knötchen der Blindschleiche war eine Aeskulapschlange (Schl. 29) subkutan infiziert worden. Tod nach 55 Tagen. An der Impfstelle ein weißliches derbes Knötchen, und ein weiches an der dorsalen rechten Lungenfläche. Im Strichsafte beider Knötchen Häufchen kurzer, blaß gefärbter säurefester Stäbchen neben zahlreichen nicht säurefesten, kurzen, plumpen Bacillen. Kulturen aus den Lungenknötchen blieben bei Zimmer- und Brutschranktemperatur zum Teil steril, zum Teil waren sie durch andere Bakterien verunreinigt.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß in diesem Falle die bei der Blindschleiche beobachteten Veränderungen durch den eingeimpften

menschlichen Tb.-Stamm hervorgerufen worden sind. Dafür sprechen die kulturellen Eigenschaften des aus der Leber rückgezüchteten Stammes, dessen Pathogenität für Meerschweinchen, und das Sterilbleiben der Kulturen, welche bei Zimmertemperatur gehalten wurden. Andererseits ist es auffällig, daß der Stamm auch auf gewöhnlichen Agar wächst, was dafür spricht, daß er in seinen physiologischen Eigenschaften durch den Aufenthalt im Tierkörper merklich beeinflußt wurde.

Dies ist um so bemerkenswerter, als eine von uns vorgenommene größere Versuchsreihe, welche den Zweck hatte zu untersuchen, ob nicht doch einzelne Tb.-Stämme menschlicher Herkunft die Fähigkeit hätten, auf Traubenzuckeragar zu wachsen, durchwegs negativ ausgefallen war.

Ob die bei der sekundär mit den Mesenterialknötchen der Blindschleiche geimpften Schlange beobachteten geringfügigen Veränderungen nicht etwa zum Teil den Begleitbakterien zuzuschreiben sind, entzieht sich unserer Beurteilung, daher ist jede weitere Besprechung dieses letzten Falles überflüssig.

Als Resumé dieser Versuchsreihe ergibt sich, daß menschliche Tb. an Blindschleichen haften und in denselben echte tuberkulöse Veränderungen erzeugen können, ohne eine Transformation ihrer kulturellen Eigenschaften in jene der Kaltblütertb. zu erleiden.

II.

Aeskulapschlange (Schl. 5). Am 12. Mai 1905 subkutan geimpft mit einer aus Sputum gewonnenen Reinkultur auf Hirn-Glycerinagar. Die Kultur war 13½ Monate alt, stand 11½ Monate bei Zimmertemperatur, war von warzigem Aussehen und im Alter gelblich und weich geworden. Die Kultur bestand aus verschieden langen, meist segmentierten, säurefesten Stäbchen. Die Schlange ging nach 59 Tagen ein.

Autopsie: An der Impfstelle keine Veränderungen. Proximal davon unter der Haut der linken Halsseite, der Rippenmuskulatur aufliegend, eine Anzahl hirsekorngroßer, weicher, leicht zerreiblicher Knötchen, welche sehr reichlich ziemlich lange, gut gefärbte Tb. einschließen. Vom Unterkieferwinkel angefangen entlang der Trachea, deren vorderer und seitlichen Fläche aufsitzend eine große Zahl mikroskopisch kleiner bis hirsekorngroßer, weißer, mäßig derber Knötchen. Aehnliche Knötchen verstreut entlang der großen Gefäße und am Peritoneum des Dickdarmes. In diesen Knötchen mäßig zahlreiche, zumeist säurefeste, zum Teil nicht säurefeste Tb. Die Leber mit zahlreichen bis linsengroßen, gelblichweißen, hellrot umsäumten konfluierenden Flecken, in denen sich keine Tb., aber zahlreiche dicke, plumpe, nicht säurefeste Bacillen fanden.

Histologischer Befund.

Lunge: Eine große Zahl von Alveolen ausgefüllt mit Zelldetritus und Kernfragmenten und einzelnen noch erhaltenen, vorwiegend eosinophilen Leukocyten. Das Alveolarepithel in diesen Alveolen ist nekrotisch. Oefters erstrecken sich solche konfluierende nekrotische Herde über das Gebiet mehrerer Alveolen. In den nekrotischen Herden liegen sehr zahlreiche dicke und dünnere, meist sehr lange, oft zu zopfförmigen Gebilden verbundene Tb. Außer den erwähnten Herden finden sich abgegrenzte Zellanhäufungen im interstitiellen Gewebe. Dieselben bestehen aus ziemlich großen Zellen mit rundem Kerne und zahlreichen eosinophilen Zellen und enthalten gleichfalls reichlich Tb. Die Kapillaren der Lunge sind durchweg stark gefüllt und enthalten ebenso wie auch das interstitielle Lungengewebe reichliche eosinophile Zellen.

Gefäße: Entlang der Aorta, der Adventitia derselben aufgelagert, finden sich Anhäufungen nekrotischen Zellmaterials mit zahlreichen langen Tb. Auch das Lumen der großen Venen ist ausgefüllt mit äußerst dicht gelagerten Tb.

Leber: In den Gefäßen und den Kapillaren der Leber liegen zahllose lange blaue Bacillen. Die Kerne der den Bacillenhaufen benachbarten Leberbalken sind zum Teil blaß oder ungefärbt. Die Zellen einzelner Leberzellbalken in nekrotischem Zerfall. (Schluß folgt.)

Bericht über die Influenzauntersuchungen an der Prosektur des k. k. Kaiser Franz-Joseph-Spitales in den letzten 11 Jahren (1896—1906).

[Aus der Prosektur des k. k. Kaiser Franz-Joseph-Spitales in Wien (Vorstand: Prof. R. Kretz).]

Von Dr. **Fritz Tedesko.**

(Fortsetzung.)

1899.

In diesem Jahre erreichte die Anzahl der Einzeluntersuchungen das Maximum (238). Davon entfallen auf klinische Untersuchungen 148, auf anatomische 90. Die Morbidität ist mit 34 Befunden im März, die Mortalität mit 24 Influenzasektionen im Mai auf dem Gipfelpunkt angelangt. Von 148 von den Abteilungen gesandten Sputis entstammten 16 Tuberkulösen, 7 nicht durch den Tuberkelbacillus hervorgerufenen chronischen Lungenkrankheiten (Asthma bronchiale [138], chronische Pneumonie [45, 132], Lungengangrän [42, 48, 53], Bronchiektasie [49]), während die übrigen 125 ausgestellten Befunde sich auf 59 Influenzen (+ Bronchitis), 48 Pneumonieen im akuten Stadium, 2 Typhen und 16 akute Infektionskrankheiten des Kindesalters beziehen.

In diesem Jahre gelangte eine bisher noch nicht bekannte Bakterienart (publiziert von Jehle [24]) zur Beobachtung, die auch in späteren Jahren als Nebenbefund, häufig auch allein bei für Influenza gehaltenen Erkrankungen gezüchtet werden konnte (No. 125, 130, 131).

Unter den 90 Sektionen mit positivem Influenzabacillenbefund gehören 53 den akuten Infektionskrankheiten der Kinder an. Jehle (11) hat die Rolle der Influenza als Mischinfektion bei den exanthematischen Krankheiten in einer ausführlichen Publikation, die die Fälle dieser Kategorie aus den Jahren 1899 und 1900 zusammenfaßt, gewürdigt, so daß ich in diesem Punkte auf die Darstellung des Autors verweisen kann.

Ohne zu der sattsam traktierten Stellung der Influenza als Mischinfektion bei der Lungentuberkulose Stellung nehmen zu wollen, bemerke ich, daß auf 272 Todesfälle von Organ- und Allgemeintuberkulose, von denen allerdings nicht alle seziert wurden, 6 in cadavere erhobene Influenzabefunde entfallen. In Beobachtung 15 ist wahrscheinlich die Indurativpneumonie auf Rechnung chronischer Influenza zu setzen, die auch die von Buhl in den 60er Jahren indurierenden Pneumonieen ursächlich beeinflußt haben dürfte.

Von frischen endokarditischen Auflagerungen (78) gelang Züchtung von Influenza in Reinkultur.

1899	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	5. Jan.	9		Influenza	Reichlich I	Längere Fäden und Scheinfäden
2	6. „	13		Tbc. pulm.	Reichlich I	
3	10. „	22		Influenza	Fast Reinkult. von I	
4	12. „	25		Influenza	I + Diplo	
5	12. „	26		Influenza	Fast Reinkult. von I	
6	13. „	28		Influenza	Reichlich I (< $^3/_4$)	
7	13. „	29		Pneumonie	Einzelne I + Pneum	
8	13. „	33		Pertussis	< $^3/_4$ I, Diplo, Staph, 8 Pertussiskol.	
9	15. „	37		Pertussis	$^1/_2$ Pertussis, $^1/_2$ I	
10	15. „	38		Influenza	Spärlich I	
11	15. „	41		Influenza	Einzelne I	
12	16. „	43		Morbilli	Massenhaft I	
13	17. „	46		Pneumonie	Spärlich I	Pr. 50 idem
14	18. „	49		Pneumonie	Reichlich I	
15	20. „	58		Morbilli	Massenhaft I	
16	26. „	71		Influenza	Massenhaft I	In Reinkultur, Pr. 80 nachuntersucht
17	27. „	73		Influenza	Kolossale Mengen I, fast Reinkultur	
18	29. „	79		Tbc. pulm.	Ziemlich viel I	
19	30. „	81		Morbilli	Reichlich I	
20	4. Febr.	88		Influenza	Pneum + I	
21	5. „	89		Pneumonie	Reichlich I	
22	5. „	92		Pneumonie	$^1/_2$ I	* Saalgenossen
23	6. „	97		Influenza	Fast Reinkult. von I	*
24	7. „	99		Pneumonie	Fast Reinkult. von I	*
25	7. „	100		Pneumonie	Spärlich I, reichlich Pneum	
26	7. „	102		Influenza	Reichl. I + Pneum	*
27	7. „	105		Influenza	Reichl. I + Pneum	*
28	7. „	108		Influenza	Spärlich I	*
29	14. „	124		Pneumonie	Reichlich I, einzelne Strept	
30	14. „	126		Influenza	Reichlich I	
31	15. „	127		Influenza	$^4/_5$ I	
32	17. „	132		Influenza	Fast Reinkult. von I	
33	17. „	133		Influenza	Fast Reinkult. von I	
34	19. „	144		Morbilli	Diplo, Staph, $^1/_4$ I	
35	19. „	146		Influenza	Reinkultur von I	Nasenschleim
36	20. „	153		Influenza	Reinkultur von I	
37	20. „	154		Pneumonie	$^2/_3$ I, $^1/_3$ Pneum	
38	20. „	155		Pneumonie	$^2/_3$ I	
39	21. „	158		Influenza	Ueberwiegend I, sonst Pneum	† 13. März (Pr. 232)
40	22. „	164		Influenza	Reichlich I, spärlich Kokken	
41	23. „	165		Tbc. pulm.	Vereinzelte I	
42	23. „	169		Gangraena pulm.	Ueberwiegend I	† 14. März (Pr. 236)
43	24. „	174		Influenza	Ueberwiegend I	
44	24. „	175		Influenza	Ueberwiegend I	
45	24. „	181		Chron. Pneumonie	Spärlich I	† 28. März (Pr. 280)
46	28. „	183		Pneumonie	3 I-Kolonieen	
47	28. „	187		Emphysem	Reichlich I	
48	1. März	188		Gangraena pulm.	Reichlich I neben Strept	
49	1. „	189		Bronchiektasie	Massenhaft I neben Diplo	
50	2. „	197		Pneumonie	Spärlich I + Staph	
51	2. „	198		Tbc. pulm.	Reichlich I fast in Reinkultur	

1899	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
52	3. März	199		Influenza	Massenhaft I	
53	5. „	203		Gangraena pulm.	Ueberwiegend I	
54	6. „	206		Influenza	$^2/_3$ I	
55	7. „	208		Pneumonie	Reichlich I	
56	8. „	209		Influenza	Reichlich I	
57	9. „	217		Influenza	Massenhaft I fast in Reinkultur	
58	10. „	219		Tbc. pulm.	Massenhaft I fast in Reinkultur	
59	10. „	220		Influenza	Ziemlich reichlich I	
60	10. „	222		Pneumonie	Ziemlich reichlich I	
61	10. „	223		Angina, Bronchitis	Hauptsächlich I	
62	11. „	224		Influenza	Reichlich I	
63	11. „	227		Pneumonie, Pleuritis	Massenhaft I in Reinkultur	
64	11. „	229		Influenza	Reichlich I	
65	12. „	230		Influenza	Ueberwiegend I	
66	14. „	234		Influenza	$^1/_3$ I + Diplo	
67	14. „	235		Influenza	Fast ausschließl. I	
68	16. „	241		Pneumonie	Ueberwiegend I + Pneum	
69	16. „	242		Pneumonie	Zieml. reichl. I, sonst Pneum, Strept	
70	17. „	244		Influenza	Massenhaft I, sonst Diplo	
71	17. „	246		Influenza	Ziemlich reichlich I	
72	18. „	247		Pneumonie	Mäßig reichlich I	
73	18. „	248		Pneumonie	Reichlich I	
74	22. „	258		Pneumonie	Reichlich Infl.	
75	22. „	259		Tbc. pulm.	Massenhaft I fast in Reinkultur	
76	22. „	261		Pneumonie	Vereinzelt I, Diplo	
77	23. „	262		Pneumonie	Reichlich I + Friedl	
78	23. „	264		Pneumonie	Sehr reichlich I + Diplo	
79	28. „	273		Pneumonie	Mäßig reichlich I	
80	29. „	281		Influenza	Viel I	
81	29. „	282		Influenza	I + Friedl zu gleichen Teilen	
82	31. „	285		Tbc. pulm.	Ueberwiegend I	
83	1. April	289		Influenza	Viel I, sonst Diplo	
84	3. „	294		Pneumonie	Mäßig reichlich I + Pneum	
85	4. „	298		Pneumonie	Massenhaft I	Reinkultur
86	5. „	300		Pneumonie	Spärlich I	
87	6. „	302		Tbc. pulm.	Reichlich I	
88	6. „	306		Tbc. pulm.	Mäßig reichlich I	
89	10. „	311		Pneumonie	Vereinzelt I	
90	10. „	312		Pneumonie	Reichl. Diplo, Strept Spärlich I	
91	11. „	313		Bronchitis	Mäßig reichlich I	
92	14. „	322		Influenza	Vereinzelt I	
93	18. „	329		Pneumonie	Mäßig reichl. I, viel Pneum	
94	18. „	332		Tbc. pulm.	Mäßig reichl. I, viel Pneum	
95	21. „	335		Tbc. pulm.	Mäßig reichlich I	
96	25. „	343		Influenza	I	Absolute Reinkult., 3 fremde Kolonieen
97	27. „	358		Pneumonie	Reichlich I	
98	2. Mai	374		Pneumonie	Ueberwiegend I	

1899	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
99	3. Mai	375		Tbc. pulm.	Vereinzelt I	
100	9. „	394		Influenza	Reichlich I	
101	16. „	418		Influenza	I Reinkultur	
102	23. „	438		Pneumonie	Wenig I, viel Diplo	
103	13. Juni	476		Pneumonie	I + reichlich Diplo	
104	16. „	478		Pneumonie	Staph, Strept, 1 I-Kolonie	
105	30. „	516		Bronchitis diffusa	I fast in Reinkultur	
106	2. Juli	525		Diphtherie	Reichlich I + Strept	
107	7. „	529		Influenza	I	Reinkultur
108	9. „	532		Morbilli	Ueberwiegend I	
109	9. „	533		Influenza	Reichlich I	
110	13. „	542		Pneumonie	Ziemlich reichlich I, Pneum, Staph	
111	19. „	553		Morbilli	Massenhaft I	Blut: Reichlich I!
112	22. „	561		Morbilli	Massenhaft I	Reinkultur, Pr. 580 derselbe Befund
113	26. „	566		Influenza	Mäßig reichlich I	Pr. 571 idem
114	29. „	570		Pneumonie	Reichlich I + Staph	
115	1. Aug.	575		Typhus	Massenhaft I	
116	5. „	585		Influenza	Sehr spärl. I, Staph	
117	8. „	591		Pneumonie	$^1/_8$ I, Pneum	
118	11. „	596		Influenza	$^1/_2$ I	
119	26. „	630		Influenza	Reichlich I + Staph	
120	11. Sept.	659		Pneumonie	Reichl. I + Pneum	
121	11. „	660		Pneumonie	Vorwiegend Pneum, spärlich I	
122	22. „	671		Influenza	Ueberwiegend I	
123	3. Okt.	685		Pneumonie	Ziemlich reichlich I, sonst Diplo	
124	6. „	690		Morbilli	$^9/_{10}$ I, $^1/_{10}$ Strept + Staph	
125	13. „	701		Influenza	I + Friedl	Bac. 701
126	28. „	724		Pneumonie	Ziemlich reichlich I	
127	28. „	725		Pneumonie	Ziemlich reichlich I	† Bac. 701
128	5. Nov.	736		Morbilli	Massenhaft I	
129	5. „	737		Typhus	Massenhaft I	
130	8. „	744		Tbc. pulm.	Ziemlich reichlich I	788 = Bac. 701
131	15. „	767		Tbc. pulm.		701 in Reinkultur
132	22. „	780		Pneumonia chronica	Massenhaft I	Reinkultur
133	23. „	786		Influenza	Mäßig reichlich I	
134	23. „	787		Influenza	Mäßig reichlich I	
135	24. „	789		Pneumonie	Ziemlich reichlich I + Pneum	
136	25. „	794		Pneumonie	Friedl neben wenig I	
137	27. „	798		Morbilli	Friedl, Pneum, wenig I	
138	5. Dez.	802		Asthma bronchiale	Sehr spärlich I	
139	6. „	822		Pneumonie	Spärlich I	
140	8. „	829		Tbc. laryngis	Massenhaft Pneum + I	
141	9. „	830		Pneumonie	Reichlich Pneum, spärlich I	
142	13. „	850		Tbc. pulm.	Reichlich Strept, spärlich I	
143	15. „	855		Pertussis	Vorwieg. I + Diplo	
144	17. „	864		Influenza	Vereinzelt I	
145	22. „	881		Influenza	$^2/_8$ I	
146	23. „	882		Influenza	$^2/_3$ I	
147	25. „	884		Pneumonie	Ganz vereinzelt I	
148	25. „	885		Pertussis	Pneum, Strept, einzelne I	

1899	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	1. Jan.	1	65 J.	Pneumonie	Pneumonia croup., Bronchitis diffusa gravis	Reichlich I
2	7. „	14	48 „	Pneumonie	Pneumonia in stadio hepatisat., Pleuritis fibrinosa	Reichlich I
3	7. „	15	14 „	Meningitis tbc.	Pneumonia lobularis tbc., Meningitis tbc.	Reichlich I
4	12. „	27	70 „	Emphysema pulm., Marasmus	Bronchitis diffusa grav., Hydrothorax	I fast in Reinkultur
5	16. „	42	10 M.	Morbilli	Bronchitis purulenta	Fast nur I
6	19. „	51	1 J.	Pertussis	Bronchitis diffusa cum atelectatibus	3/4 I, 1/4 Pertussis
7	20. „	59	48 „	Pneumonie	Pneumonia croup., Pleuritis recens	Ziemlich reichlich I
8	5. Febr.	90	3 „	Pertussis	Pneumonia lobul., Pleuritis recens	Pneum, Pertussis-bac., Infl.
9	9. „	113	37 „	Erysipelas	Tbc. chronica pulm., Pneumonia lobul., Abscessus pulm.	Massenhaft Strept, ziemlich reichlich I
10	13. „	120	44 „	Pneumonie	Pneumonia croup. in stadio hepatisat. rubrae, Pleuritis recens	Reichlich I + Strept
11	19. „	145	5 „	Diphtherie	Bronchitis diffusa	Spärlich I
12	19. „	149	20 „	Pneumonie	Pneumonia in stadio hepatisat. rubrae, Pleuritis fibrinosa	Sekret aus Nase + Bronchien: Reichlich I
13	21. „	159	61 „	Pneumonie	Bronchitis diffusa	Ziemlich reichlich I
14	10. März	221	78 „	Marasmus senilis	Bronchitis gravis	Massenhaft I in Reinkultur
15	11. „	225	42 „	Tbc. pulm.	Indurativ-Pneumonie, Absc. pulm.	Ziemlich reichlich I
16	11. „	226	10 M.	Diphtherie	Pneumonia lobularis confluens	Reichlich I
17	13. „	231	30 J.	Pneumonie	Bronchitis diffusa	Nasen- + Bronchialsekret: Reichlich I
18	13. „	232	45 „	Pneumonie	Pneumonia croup. in stadio hepatisat. rubrae et griseae	Reichlich I
19	14. „	236	37 „	Pneumonie	Gangraena pulm.	Reichlich I
20	16. „	240	46 „	Pneumonie	Gangraena pulm.	Fast ausschließlich I
21	25. „	269	58 „	Tbc. pulm.	Pneumonia caseosa lobul., Meningitis tbc.	Pneum + reichlich I
22	28. „	280	56 „	Pleuritis	Pleuritis, Endocarditis	Endocard: Reichl. Bact. coli, ziemlich reichlich I
23	1. April	288	70 „	Pneumonie	Abscessus pulm.	Ueberwiegend I
24	19. „	330	5 „	Scarlatina	Nephritis haemorrhag., Bronchitis diffusa	Im Blute einzelne I
25	19. „	331	4 „	Scarlatina	Tbc. pulm., Pneumonia caseosa	Blut: Reichlich I
26	20. „	333	12 „	Scarlatina	Nephritis acuta, Gonitis purulenta	Blut: Reichlich I
27	22. „	337	3 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Blut: Reichlich I
28	25. „	347	4 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Blut: Massenhaft I
29	26. „	352	4 „	Pertussis	Tbc. pulm.	Reichlich I, Blut: Steril

1899	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
30	26. April	353	4 J.	Varicellen	Pneumonia lobularis	Reichlich I, Blut: Steril
31	27. „	356	4 „	Scarlatina	Synovitis purulenta multiplex	Bronchialsekret: Strept, Blut: I in Reinkultur
32	27. „	357	2 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	Blut: θ
33	27. „	359	8 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Reichlich I
34	27. „	360	1 „	Diphtherie, Varicellen	Pneumonia lobularis	Reichlich I
35	27. „	361	5 „	Scarlatina, Morbillen	Bronchitis diffusa	Reichlich I, Blut: Reichlich I
36	28. „	362	62 „	Myocarditis	Myocarditis chron., Bronchitis purul.	I in Reinkultur
37	28. „	364	76 „	Marasmus senilis	Bronchitis gravis	I
38	29. „	366	2 „	Morbilli, Diphtherie	Pneumonia lobularis	Massenhaft I
39	29. „	367	3 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	Massenhaft I
40	30. „	368	3 „	Morbilli	Abscessus pulm.	Reichlich I
41	30. „	370	25 „	Pneumonie	Pneumonia in stadio hepatisat. griseae, Pleuritis fibrinosa	Reinkultur von I, Niere: Vereinzelt I
42	2. Mai	372	66 „	Pneumonie	Emphysema pulm., Bronchiectas., Indurat. multiplices pulm.	Massenhaft I in Reinkultur
43	3. „	375	6 „	Tbc. pulm.	Tbc. acuta et chron. pulm., Meningitis tbc.	Massenhaft I in Reinkultur, im Blut nach 3 Tgn 1 I-Kol.
44	4. „	377	3 „	Diphtherie	Bronchitis diffusa	I sehr reichlich
45	4. „	379	3 „	Diphtherie, Morbilli	Tbc. acuta pulm.	Spärlich I
46	5. „	386	6 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	Sehr reichlich
47	5. „	389	49 „	Pneumonie, Ikterus	Pneumonia croup. in stadio hepatisat. griseae	Reichlich I
48	8. „	390	2 „	Diphtherie, Scarlatina	Pneumonia lobularis	Reichlich I, Blut: Sehr reichlich I
49	11. „	400	2 „	Diphtherie	Abscessus pulm.	Reichlich Strept, spärlich I
50	14. „	408	2 „	Scarlatina	Bronchitis	Reichlich I, Blut: I
51	16. „	416	4 „	Morbillen	Pneumonia lobularis	Spärlich I, Blut: Nach 48 Stunden einzelne I
52	18. „	422	50 „	Pneumonie	Pneumonia partim in suppuratione	Mäßig reichlich I + Friedl
53	18. „	424	1 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	Mäßig reichlich I, Blut: Spärlich I
54	19. „	426	1 „	Pertussis	Pleuritis, Atelectases pulmon.	I in Reinkultur, Blut: Einzelne I
55	20. „	428	7 „	Morbilli	Tbc. miliaris pulm.	I in Reinkultur, Blut: Massenhaft I
56	20. „	429	1 „	Pertussis	Tbc. subacuta pulm.	I in Reinkultur
57	21. „	430	2 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	Spärlich I
58	22. „	434	1 „	Diphtherie	Tbc. pulmonum	Mäßig reichlich I, Strept
59	23. „	441	20 „	Erysipel	Pneumonia croup. in stadio hepatisat. rubrae	Massenhaft I, Blut: 2 I-Kolonieen
60	23. „	444	70 „	Pneumonie	Pneumonia indurativa	Spärlich I
61	28. „	447	2 „	Diphtherie	Tbc. pulmonum	Massenhaft I, Blut: Reichlich I

1899	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
62	29. Mai	448	41 J.	Tbc. pulmonum	Pneumonia caseosa	Massenhaft I
63	29. „	449	2 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Mäß. reichl. I, Blut: Ziemlich reichlich I
64	30. „	452	6 „	Tbc. pulmonum	Meningitis tbc., Pneumonia lobul.	Massenhaft I
65	31. „	456	2 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis	Massenhaft I } Agglut. mit 457
66	31. „	457	1 „	Scarlatina	Nephritis acuta	Sehr spärlich } Agglut. mit 457
67	10. Juni	474	28 „	Scarlatina	Pericarditis purul.	Strept, Blut: Vereinzelte I
68	11. „	479	4 „	Scarlatina	Nephritis acuta	Massenhaft I, Blut: Sehr viel I
69	17. „	491	2 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis	Massenhaft I
70	30. „	517	2 „	Scarlatina	Pleuritis	Ziemlich reichlich I, Blut: Zieml. reichlich I
71	10. Juli	535	3 „	Morbilli	Pneumonia lobularis haemorrhagica	Massenhaft I, Blut: 7 I-Kolonieen
72	30. „	683	7 „	Scarlatina	Angina gangraenosa	I + Strept, Tonsillen: Reichl. I + Strept
73	8. Nov.	748	9 „	Diphtherie	Bronchitis diffusa	Massenh. I in Reinkultur, Blut: θ
74	9. „	750	2 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	Massenhaft I
75	9. „	752	1 „	Pertussis	Tbc. pulm. acuta et subacuta	Massenhaft I
76	19. „	773	33 „	Tbc. miliaris	Tbc. acuta, Pneumothorax	Massenhaft I
77	2. Dez.	811	13 „	Dysenterie	Enteritis necroticans	Massenhaft I
78	4. „	816	40 „	Endocarditis	Phthisis chron. tbc., Endocard. recens	Vom Endocard: I in Reinkultur
79	6. „	825	55 „	Gangraena pulm.	Abscessus pulm., Haemorrh. pleurale	Massenhaft I in Reinkultur
80	7. „	831	10 M.	Morbilli	Pneumonia lobularis	Spärlich I, Blut: Reichlich I, Tonsillen: Reichl. I
81	15. „	854	1 J.	Varicellen, Pertussis	Bronchitis diffusa	Massenhaft I in Reinkultur
82	15. „	858	5 Mon.	Erysipelas	Bronchiolitis	Reichlich I
83	15. „	859	3 „	Pertussis	Bronchitis levioris gradus., Atelectases extensae	Reichlich I
84	15. „	860	1 J.	Diphtherie	Bronchitis, Pneum. lobularis confluens	Ziemlich reichlich I
85	17. „	863	19 „	Scarlatina	Bronchitis	Spärlich I, Tonsillen: Massenh. I, Blut: Vereinzelte I
86	19. „	867	26 „	Nephritis	Bronchiectasiae, Nephritis subacuta	Reichl. I, Nierenbecken: I fast in Reinkultur
87	19. „	869	2 „	Pertussis	Tbc. lympho-glandularum	Massenh. I + Strept
88	19. „	870	22 „	Pyämie	Pneumon. croup. et lobularis, Pericard. fibrinosa, Haemorrhag. cutaneae	Pericard, Blut, Nieren: Massenhaft I, Staph, Diplo
89	22. „	878	8 Mon.	Varicellen	Bronchitis	Massenhaft I in Reinkultur
90	30. „	892	4 J.	Morbilli	Bronchitis purul., Peribronchitis	Reichlich I

1900	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	2. Jan.	3		Tbc. pulmonum	Spärlich I	
2	2. „	4		Typhus	Massenhaft I in Reinkultur	
3	4. „	8		Pneumonie	Massenhaft I fast in Reinkultur	
4	9. „	21		Influenza	Reichlich I	
5	9. „	23		Erysipel	Reichlich I	
6	11. „	25		Influenza	Infl. massenhaft, einzelne Staph	
7	13. „	28		Pneum. interstitialis	Reichl. Pneum + I	
8	14. „	31		Bronchitis, Influenza	Ziemlich reichlich I	
9	14. „	33		Proc. puerperalis	Massenhaft I	
10	18. „	42		Influenza	Spärlich I	
11	21. „	52		Influenza	Reichlich I	
12	21. „	57		Influenza	Reichlich I	Staph-Impfung
13	24. „	60		Influenza	Mäßig reichlich I	
14	24. „	62		Influenza	Spärlich I, reichlich Pneum + Staph	
15	25. „	63		Influenza	Mäßig reichlich I, 2 Friedl-Kol.	
16	30. „	75		Pneumonie	Vereinzelt I, reichl. Strept + Diplo	
17	1. Febr.	76		Pneumonie	Vereinzelt I, reichl. Friedl	
18	1. „	77		Pneumonie	Massenhaft I fast in Reinkultur	
19	3. „	79		Influenza	Sehr reichlich I	
20	3. „	81		Influenza	Massenhaft I fast in Reinkultur	
21	5. „	89		Tbc. pulm.	Jehlescher Bacillus in Reinkultur	250—300 Kol. ohne deutliche kolbige Auftreibung
22	4. „	86		Influenza	Massenhaft I fast in Reinkultur	Cf. 701 e 1899
23	4. „	85		Pneumonie	Jehlescher Bacillus	Bac. 701/99
24	5. „	90		Influenza	Massenhaft I	
25	5. „	93		Influenza, Pneumonie	Sehr spärlich I, viel Diplo	
26	6. „	95		Pneumonie	Mäßig reichlich I	
27	8. „	101		Tbc. pulm.	Sehr reichlich I	
28	8. „	102		Tbc. pulm.	Jehlescher Bacillus in Reinkultur	
29	9. „	103		Erysipel, Tbc. pulm.	Massenhaft I	
30	9. „	107		Influenza	Reichlich I + Jehlescher Bacillus	
31	9. „	108		Influenza	Massenhaft I in Reinkultur	
32	10. „	110		Proc. puerperalis	Mäßig reichlich I	
33	10. „	113		Pertussis	Vorwiegend Strept, Diplo, Staph, einzelne I	
34	15. „	125		Pneumonie	Ziemlich reichlich I	
35	15. „	133		Pneumonie	Ganz vereinzelt I	
36	18. „	145		Pueumonie	Diplo, spärlich I	
37	20. „	155		Influenza	Reichlich I neben Staph + Strept	
38	20. „	159		Pertussis	Einzelne I	
39	21. „	162		Pneumonie	Strept, sehr spärl. I	
40	24. „	173		Influenza	Sehr reichlich I in Reinkultur	

1900	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
41	25. Febr.	176		Influenza	Mäßig reichlich I	
42	26. „	178		Tbc. pulm.	Vereinzelt I	
43	26. „	180		Influenza	Sehr reichlich I	
44	26. „	181		Pertussis	Sehr reichlich I + Jehlescher Bacillus	
45	27. „	187		Bronchitis	$^1/_{10}$ I	
46	1. März	196		Pneumonie	Massenhaft I	
47	2. „	204		Pneumonie	Sehr spärlich I	
48		208		Tbc. pulm.	Sehr reichl. I, daneb. Staph + Strept	
49	9. „	210		Influenza	Sehr reichlich I fast in Reinkultur	Staph-Impfung
50	11. „	226		Erysipel	Sehr reichlich I	
51	11. „	228		Influenza	Sehr spärlich I	
52	11. „	231		Pneumonie	Spärlich I	
53	11. „	232		Influenza	Mäßig reichlich I	
54	14. „	240		Meningitis	Friedl + ziemlich reichlich I	
55	15. „	247		Diphtherie	Massenhaft I	
56	19. „	266		Influenza	Massenhaft I in Reinkultur	
57	20. „	268		Influenza	Massenhaft I, reichlich Friedl	
58	16. „	251		Influenza	Kol. 701/99 in Reinkultur	Jehlescher Bacillus in Reinkultur
59	17. „	257		Influenza	Sehr reichlich I	
60	18. „	259		Influenza	Massenhaft I	
61	16. „	250		Influenza	Spärlich I + Friedl	Reichl. Pyocyaneus
62	18. „	260		Influenza	Spärlich I	
63	28. „	287		Influenza	Massenhaft I	
64	28. „	288		Pneumonie	Massenhaft I	
65	25. „	293		Influenza	Friedl + I	Jehlescher Bacillus
66	25. „	294		Diphtherie	Ziemlich reichlich I	
67	27. „	306		Typhus? Influenza?	Reichlich I + Jehlescher Bacillus	
68	28. „	315		Pneumonie	Ziemlich reichlich I	
69	30. „	325		Typhus	Massenhaft I	
70	30. „	328		Typhus	Massenhaft I	Daneben dunkle unregelmäß. begrenzte Kol., mikroskopisch I entprechend
71	31. „	334		Pneumonie	Massenhaft I	Daneben Bac. Jehle
72	2. April	345		Influenza? Typhus?	Massenhaft I + Bac. Jehle	
73	3. „	352		Morbilli	Spärlich I	
74	4. „	357		Influenza	Massenhaft I in Reinkultur	
75	6. „	364		Influenza	Reichlich I	
76	7. „	375		Pneumonie	Spärlich I	
77	9. „	381		Typhus	Spärlich I	
78	10. „	387		Pneumonie	Diplo + Bac. Jehle	
79	12. „	391		Pneumonie	Zieml. reichl. Pneum daneben I	
80	17. „	414		Influenza	Sehr reichlich I in Reinkultur	
81	18. „	415		Influenza	Sehr reichlich I + Bac. Jehle	
82	21. „	427		Typhus	Ueberwiegend I	
83	21. „	428		Emphysem	Bac. Jehle	
84	22. „	431		Influenza	$^3/_4$ I, $^1/_4$ Friedl	
85	23. „	434		Influenza	$^1/_4$ I	

1900	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
86	23. April	436		Pneumonie	Pneum, Strept, einzelne I	
87	24. „	440		Typhus?	Weit überwiegend I, daneben Staph. aur.	
88	25. „	444		Pneumonie	I weit überwiegend	
89	27. „	447		Influenza	I in Reinkultur	
90	27. „	449		Pneumonie	Ziemlich reichlich I	
91	27. „	450		Bronchitis	Reichlich I	
92	28. „	454		Pneumonie	Ueberwieg. Pneum, spärlich I	
93	2. Mai	468		Influenza	Massenhaft I in Reinkultur	
94	7. „	482		Pneumonie	Massenhaft I	
95	8. „	489		Pneumonie	Massenhaft I	
96	10. „	493		Pneumonie	Neben I reichlich Jehles Bacillen	
97	12. „	500		Pneumonie	Massenhaft I in Reinkultur	
98	14. „	505		Influenza	Nach 24 Std. ziemlich reichlich I	
99	15. „	508		Influenza	Reichlich I	
100	24. „	541		Influenza	Jehles Bacillen	Auf SA. u. Blutagar reichl. Kol. 701/99
101	30. „	562		Pneumonie	Massenhaft I in Reinkultur	
102	30. „	563		Pneumonie	Spärlich I, Diplo	
103	30. „	564		Typhus	5 Typhuskolonieen, spärlich I	
104	31. „	567		Morbilli	Massenhaft I	
105	31. „	568		Morbilli	Reichlich I	
106	8. Juni	588		Tbc. pulm.	Ueberwiegend Diplo, spärlich I	
107	15. „	598		Tbc. pulm.	Reichlich I	
108	17. „	604		Influenza	Sehr reichlich I in Reinkultur	
109	26. „	622		Typhus	Ziemlich reichlich I	
110	27. „	626		Abscessus pulm.	Neben Diplo reichlich I	
111	28. „	629		Influenza	Spärlich I	
112	7. Juli	651		Influenza	Einzelne I	
113	8. „	652		Pneumonie	I in geringer Menge	
114	9. „	657		Typhus	Reichlich I	
115	11. „	661		Morbilli	Reichlich I	
116	14. „	667		Tbc. pulm.	Sehr reichlich I fast in Reinkultur	
117	19. „	674		Pertussis	Reichlich I	
118	31. „	696		Influenza	Reichlich I	
119	11. Aug.	719		Pneumonia lobularis	Vorwiegend Diplo, vereinzelt I, Friedl	
120	6. Sept.	756		Influenza	Reichlich I	
121	6. „	757		Typhus	Sehr reichlich I + Staph	
122	24. „	811		Pneumonie	Massenhaft Diplo, sehr spärlich I	
123	29. „	829		Pneumonie	Reichlich Diplo	20 Kol. 701/99
124	4. Okt.	839		Influenza	Massenhaft I in Reinkultur	
125	12. „	865		Influenza	Reichlich I, Diplo, sehr reichl. Friedl	
126	12. „	866		Influenza	Reichlich I, Diplo, sehr reichl. Friedl	

1900	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
127	15. Okt.	876		Pneumonie	Mäßig reichlich I	
128	24. „	891		Pneumonie	Reichlich Pneum, mäßig I	
129	25. „	893		Pneumonie	Mäßig reichlich I	
130	1. Nov.	910		Influenza	Reichlich I	
131	3. „	914		Pneumonie	Vereinzelt I	
132	5. „	918		Influenza	Keine I	
133	7. „	923		Influenza	Reichlich I	
134	9. „	928		Tbc. pulm.	Vereinzelt I + Staph	
135	16. „	946		Morbilli	Sputum: Diplo + Strept	Eitriger Nasenausfluß: I in Reinkultur
136	18. „	950		Influenza	Infl + Diplo + Sarcine	
137	2. Dez.	982		Influenza	Diplo, wenig I	
138	6. „	990		Vereitertes Hämatom	Große Diplo, Strept und I	
139	11. „	999		Influenza	Reichlich I	
140	17. „	1006		Pneumonie	Reichlich I	Kol. grob granuliert, Bac. > I
141	19. „	1009		Influenza	Reichlich I	Kol. grob granuliert, Bac. > I
142	20. „	1011		Bronchitis chronica	Reichlich I + Fried	
143	24. „	1020		Influenza	Reichlich I + Diplo	

1900	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	4. Jan.	9	6 J.	Scarlatina septica, Morbilli peracti	Angina necroticans, Bronchitis diffusa, Haemorrh. pulm.	Tonsillen: Strept, Diplo, spärlich I, Blut: Staph, sehr spärlich I
2	11. „	26	?	Insuffic. et Stenosis vv. aortae	Endocarditis verruc., Bronchitis levioris gradus	Vereinzelt I, reichlich Strept
3	11. „	27	38 J.	Leukämie? Purpura haemorrhagica	Pneumonia lobul., Echinococcus hepatis	Sehr reichl. I neben Staph
4	18. „	43	29 „	Tbc. miliaris	Bronchitis diffusa gravis ex infl. Pneumonia incipiens	Reichlich I
5	18. „	44	2 M.	Pertussis	Pneumonia lobularis confluens	Reichlich Diplo + I
6	21. „	54	1 J.	Pneumonie	Bronchitis diffusa, Pneumonia lobul.	Reichlich I
7	8. Febr.	104	30 „	Enteritis chronica, Cirrhosis hepatis	Tbc. pulm. miliaris	Larynx: Massenhaft I
8	10. „	111	2 „	Scarlatina et morbilli in florib.	Bronchitis et Bronchiolitis purulenta	Mäßig reichlich I
9	12. „	122	1 „	Pertussis, Eklampsie	Bronchitis diffusa gravis	Larynx: Massenhaft I, daneben Strept
10	14. „	127	1 „	Varicellen	Pneumonia lobularis extensa	Massenh. I, Auralarterienblut: Sehr reichlich I
11	16. „	136	61 „	Cicatrices oesophagi post intoxic. cum Kalio caustico	Pneumonia lobul., Bronchitis diffusa gravis	Massenhaft I in Reinkultur
12	16. „	139	32 „	Erysipelas	Tbc. pulm. chron.	Reichlich I

1900	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
13	17. Febr.	143	80 J.	Pneumonie	Pneumonia, Marasmus senilis	Sehr reichlich I fast in Reinkultur
14	21. „	160	1 „	Pertussis	Bronchitis diffusa levioris gradus	Ziemlich reichlich I
15	23. „	171	3 M.	Pertussis	Bronchitis diffusa purulenta	Wenig I, Reichlich: Diplo, Staph, Strept
16	23. „	172	3 J.	Pertussis	Bronchitis diffusa cum pneum. lobul.	Massenhaft I
17	27. „	193	45 „	Nephritis, Urämie	Bronchitis diffusa	12 I-Kolonieen
18	2. März	203	31 „	Meningitis purulenta	Pneumonia lobaris abscedens, Septicaemia	Reichlich I
19	14. „	239	1 „	Pertussis, Morbilli peracti	Pneumonia lobularis confluens	Massenhaft I
20	22. „	278	31 „	Tbc. pulm.	Tbc. chronica, Gangraena apic. pulm. dextri	Irisierende Kol. in Reinkultur, Bac. Jehle (701/99)
21	1. April	338	37 „	Tbc. pulm.	Tbc. chronica, Pneumonia crouposa	Kaverneninhalt: 701/99 sehr reichl.
22	3. „	350	1 M.	Varicella peracta	Abscessus pulmon., Bronchitis diffusa gravis	Blut: 10 I-Kolonieen
23	3. „	351	22 J.	Pneumonie, Meningitis (?)	Pneumon. partim in resolutione partim suppurans cum gangraena incip.	Pneum + I
24	4. „	362	29 „	Typhus abdominalis	Pneumonia lobularis haemorrhagica	Reichl. Typhusbac. + I
25	6. „	369	1 „	Pertussis	Bronchitis capillaris diffusa	Sehr reichlich I in Reinkultur
26	10. „	386	3 M.	Pertussis	Bronchitis capillaris diffusa	Ziemlich reichlich I
27	14. „	401	73 J.	Pneumonia lobularis	Pneumon. crouposa, Bronchitis	Massenhaft I
28	14. „	406	51 „	Pneumonie (?)	Pneumonia lobularis partim in suppuratione, Bronchiectasiae	Reichlich I + Strept
29	17. „	412	62 „	Bronchitis putrida	Pneumonia lobularis disseminata gangraenosum	Sehr reichlich I in Reinkultur
30	23. „	438	72 „	Amputatio femoris propter gangraenam	Influenza, Bronchitis et pneum. lobularis	Nur I
31	29. „	456	68 „	Pneumonie	Pneumonia lobularis ex influenza	Massenhaft I
32	29. „	457	35 „	Tbc. pulm.	Caverna tbc. permagna fere pulm. sin. totius	Kaverne: Reichl. I neben Strept
33	30. „	459	8 M.	Varicella peracta, Pertussis	Bronchitis diffusa	Blut: 5 I-Kolonieen, Staph, Strept
34	30. „	462	2 J.	Pertussis	Pneumonia lobularis incipiens	2 I-Kolonieen
35	1. Mai	466	2 M.	Pertussis	Pneumonia lobularis confluens	Reichlich I
36	2. „	467	4 „	Pertussis	Bronchitis capillaris	Ziemlich reichlich I
37	15. „	507	5 W.	Pertussis	Bronchitis gravis, Pneumonia lobul. confluens	Reichlich I
38	16. „	514	2 J.	Varicella	Bronchitis diffusa capillaris purulenta	Sehr spärl. I, Strept, Blut: Sehr reichlich I

1900	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
39	16. Mai	515	72 J.	Tbc. pulm.	Tbc. granular. pulm.	Massenhaft I
40	17. „	521	6 M.	Pertussis	Pneumonia lobularis	Ziemlich reichlich I
41	18. „	522	40 J.	Influenza	Bronchitis diffusa ex influenza, Emphysema pulm. acutum	Ziemlich reichlich I
42	19. „	526	1 „	Morbilli peracti	Pneumonia lobularis confluens partim suppuratione	Reichlich I + Diplo, Blut: Zieml. reichlich I
43	20. „	531	9 „	Scarlatina in floritione	Bronchitis diffusa capillaris, Haemorrhag. subpleurales	Reichlich I
44	23. „	539	$1^1/_2$ „	Pertussis	Bronchitis diffusa	Kolossale Mengen von I
45	23. „	544	2 „	Morbilli	Noma, Pneumonia lobularis confluens	Reichlich Friedl, spärlich I
46	3. Juni	579	2 M.	Pertussis	Bronchitis diffusa	Ziemlich reichlich I
47	3. „	580	2 „	Pertussis	Bronchitis diffusa	Massenhaft I
48	9. Juli	656	3 „	Pertussis	Bronchitis diffusa	Blut: Reichlich I
49	24. „	685	3 J.	Pertussis	Pneumonia lobularis confluens in suppur.	Massenhaft I in Reinkultur
50	24. „	686	2 „	Pertussis	Bronchitis diffusa	Massenhaft I in Reinkultur
51	26. „	699	5 „	Pertussis	Pneumonia lobul., Abscessus pulm.	Massenhaft I in Reinkultur
52	31. „	698	2 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	Massenhaft I in Reinkultur
53	17. Sept.	787	4 M.	Pertussis	Haemorrhag. gravis lobi inf. pulm. sin.	Sehr reichlich I
54	21. „	799	6 J.	Scarlatina	Pneumonia lobul., Bronchitis acuta	Blut und Bronchialeiter: Reichlich I
55	3. Okt.	800	56 „	Pleuritis, Bronchitis, Influenza	Pneumonia lobularis confluens, Pleuritis recens	Blut und Bronchialeiter: Reichlich I
56	24. „	814	2 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis	Tonsille: 12 I-Kolonieen + Strept
57	25. „	815	2 „	Pertussis	Bronchitis gravis, Pneumonia lobul. cum induratione partiali	Blut: 25 I-Kol. fast in Reinkultur
58	27. „	824	9 „	Scarlatina	Bronchitis, Ecchymoses subpleurales	} Tonsille: Sehr reichl. I, Blut: 0
59	28. „	825	3 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	
60	4. Nov.	849	3 „	Diphtherie	Atelectases pulm.	Sehr reichlich I
61	14. „	866	4 M.	Pertussis	Pneumonia lobularis confluens	Massenhaft I in Reinkultur
62	20. „	885	4 J.	Scarlatina	Tbc. lympho-glandularum, Tonsillitis ulcerosa	} Tonsille + Blut: Massenhaft I, Platten übersät
63	20. „	886	6 „	Scarlatina	Pneumonia lobularis	
64	31. „	906	$1^1/_2$ „	Pertussis	Bronchitis diffusa	Massenhaft I
65	14. „	938	3 „	Morbilli	Bronchitis diffusa	Blut: Sehr reichlich I
66	24. „	965	5 „	Pertussis, Varicella peracta	Pneum. catarrhalis	Blut: 5 I-Kolonieen

1900.

Bei 143 von Lebenden untersuchten Sputis und Nasensekreten (Conjunctivalsekreten bei Morbillen) fällt der Umstand auf, daß bei klinisch als akut imponierenden und als Influenza diagnostizierten

Lungenaffektionen die bakteriologischen Wahrnehmungen mit denen der früheren Jahre nicht übereinstimmen.

Dieser langsam und in fließenden Etappen zu Tage tretende Unterschied zwischen klinischem Verhalten und bakteriologischem Befund erhellt am besten aus einigen Beispielen.

1896 haben alle 5 als Influenza bezeichneten Fälle in der Rubrik „Kulturelles Verhalten“ die Notiz: Fast rein, überwiegend I, auf 30 Kolonieen I eine fremde Kolonie. Die nach denselben Gesichtspunkten vorgenommene Einteilung der späteren Jahre lautet:

1897	unter 17	klinischen	Influenzen	10 = 58,8 Proz.	mit reichlichem Bacillenbefund
1898	„ 69	„	„	23 = 33	„
1899	„ 59	„	„	38 = 64	„
1900	„ 51	„	„	30 = 59	„

Immer deutlicher treten auch andere Katarrh- und Eitererreger in den Vordergrund, in den warmen Monaten verschwindet die Influenza fast ganz im Sputum (1900, Mai—September 4 positive Untersuchungen). In 7 Beobachtungen wurde der Jehlesche Sputumbacillus teils allein, teils mit Influenza und anderen Kokken und Bakterien gemeinsam angetroffen.

Die Kindersterblichkeit ist sehr bedeutend (65 Proz. der Influenzaobduktionen).

Durchschnittsalter der Erwachsenen, die an Influenzakomplikation starben = 47,4 Jahre.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Widerstandsfähigkeit der Pestbacillen gegen die Kälte.

Von Dr. N. **Murata**,
Direktor des bakteriol. Instituts und der Sanitätsabteilung zu Hiogoken (Kobe), Japan.

Im Jahre 1899 wurde zur Zeit der Pestepidemie in Newchwang an der Küste der Mandschurei ein temporäres Sanitätsbureau errichtet. Ich hatte Gelegenheit, im Auftrage der chinesischen Regierung und der fremden Konsulate daselbst die bakteriologischen Untersuchungen über die Pest anzustellen.

Zwar war die Epidemie schon im Abnehmen begriffen, doch bot mir die strenge Kälte des dortigen Klimas eine gute Gelegenheit zur Untersuchung der Widerstandsfähigkeit der Pestbacillen gegen Kälte. Solche Untersuchungen waren bis dahin verhältnismäßig viel seltener gemacht worden, als solche bei den höheren Temperaturen. Zur Untersuchung benutzte ich Agar- und Bouillonkulturen, welche 24 Stunden im Brütofen standen. Nachdem die Bacillen gut entwickelt waren, brachte ich die Kulturen an eine außerhalb des Hauses nördlich gelegene Stelle, damit sie nicht direkt von der Sonne beschienen würden. Dabei las ich genau und regelmäßig 3-stündlich die Temperaturen im Freien ab. Von den zu prüfenden Kulturen habe ich nach einer bestimmten Zeit Kulturen angelegt, welche in den Brütofen gestellt und auf die Entwickelungsfähigkeit der Bacillen hin geprüft wurden. Das Resultat war, wie folgt:

Temperatur unter 0° C	Dauer der Aussetzung in der Kälte	Wachstum
5—23	24 Stunden	+
16—32	24 „	+
22—35	24 „	+
22—38	24 „	+
25—38	24 „	+
26—38	24 „	+
38	5 „	+
22—35	2 Tage	+
22—38	3 „	+
22—38	4 „	+
26—38	3 „	+
22—38	13 „	+
26—38	4 „	+
26—38	10 „	+

Es war unmöglich, bei dieser Untersuchung ein dauerndes Experiment bei einer gleichbleibenden Temperatur anzustellen, weil ich die natürliche Temperatur zum Versuche benutzte. Die zweierlei Ziffern in der ersten Spalte der Tabelle bedeuten die minimalen und maximalen Temperaturen unter 0° C in der Versuchszeit. Aus meinen Versuchen kam ich zu dem Schlußsatze, daß die Pestbacillen bei —38° C nach 5 Stunden, bei —26° C, —38° C nach 10 Tagen noch nicht starben. Der Nährboden mit den Bacillen fror selbstredend steinhart und ich mußte jedesmal beim Impfen die Kultur im Wasserbade bei +20° bis +30° C auftauen.

Forster hat im Jahre 1898 im kaiserlich deutschen Sanitätsverein für Pest mitgeteilt, daß die Pestbacillen bei einer Temperatur von +4° C bis +7° C noch entwickelungsfähig, bei 0° C aber nicht mehr entwickelungsfähig, aber noch lebensfähig seien. Auch Pfeiffer hat in Bombay ähnliche Erfahrungen gemacht; nach ihm sind die Pestbacillen bei +5° C noch entwickelungsfähig. Meine Untersuchung ist wohl dadurch von allgemeinem Interesse, daß die zum Versuche benutzte Temperatur noch tiefer ging als diejenige, bei der die oben angeführten Autoren ihre Versuche anstellten.

Maximalverdünnung des frischen fixen und Strassenvirus, mit welcher man mittels hypodermischer und subduraler Einspritzungen noch die Tollwut erzielen kann[1]).

Von **Claudio Fermi.**

Nach Högyes wäre die subdurale Einimpfung des fixen Virus zu 1 : 5000 nicht beständig tödlich bei Kaninchen, und bei 1 : 10000 wäre es dasselbe. Impft man hingegen nach Nitsch[2]) 1—2 ccm ein, so

1) Die erste vorläufige Mitteilung erschien in der Riforma Medica. Jahrg. XXI. 1905. No. 36. Die vollständige Arbeit wird im Archiv f. Hygiene erscheinen.

2) Um eine so große Flüssigkeit sub dura einzuimpfen, ohne daß etwas davon verloren geht, macht Nitsch ein kleines Loch in den Schädel und bedient sich eines starken Spritzenansatzes.

würden die Kaninchen selbst noch bei der Verdünnung von 1:10000 zu Grunde gehen.

Um nun die äußerste tödliche Grenze der Verdünnung des Wutvirus festzustellen, was von großer Wichtigkeit ist, wenn es sich darum handelt, ein verfaultes Material oder ein solches zu versuchen, welches chemische Stoffe enthält, die subdural unvertragbar sind, oder sei es endlich um einen Vergleich zwischen der Empfindlichkeit der Hunde, der Kaninchen, der Meerschweinchen, die sub dura geimpft wurden, mit den sub cute geimpften Muriden festzustellen, stellte ich mehrere Versuche an.

Es ist selbstverständlich, daß die verschiedenen Verdünnungen kurz vor dem Gebrauche bereitet werden müssen und daß sowohl der Glaskolben geschüttelt werden muß, wenn man denselben heraussaugt, wie auch die bereitete Verdünnung, indem man mit derselben Spritze hineinbläst, bevor die Einimpfung stattfindet.

Aus mehreren angestellten Versuchen werde ich hier nur einige der wichtigsten Ergebnisse angeben.

Indem wir uns auf die äußerste Verdünnung, bezw. auf die tödliche Minimaldosis stützen, gelangen wir zu folgendem Resultate:

1) Daß die mit fixem Virus aus Sassari sub dura geimpften Meerschweinchen sich etwas empfindlicher zeigen, als die mit demselben Virus sub cute geimpften Muriden, insofern nämlich, daß, während die Muriden durch die Verdünnung von 1:50000 zu Grunde gingen, die Meerschweinchen noch mit 1:60000 unterlagen.

2) Daß die Empfindlichkeit der Ratten und der Mäuse, die subkutan geimpft wurden, die gleiche ist, wie die der sub dura geimpften Kaninchen.

3) Daß die subkutan mit der Verdünnung zu 1:50000 geimpften Ratten und Mäuse sich empfindlicher zeigen als die Hunde; in der Tat gingen nur 2:3 der Hunde durch subdurale Einimpfung des fixen Virus zu 1:50000 zu Grunde, und 2:4 bei 1:60000.

4) Die Meerschweinchen waren nicht nur empfindlicher, als die Hunde, sondern auch als die Kaninchen. Unter allen, unter den angeführten Bedingungen geimpften Tieren zeigten sich vielleicht die Hunde am wenigsten empfindlich.

5) Mit den Verdünnungen 1:30000—40000—50000 hatte man unter den Muriden immer nach subkutaner Einimpfung eine Sterblichkeit von 92 Proz., während man unter den auf subduralem Wege mit denselben Verdünnungen geimpften Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden insgesamt eine Sterblichkeit von 60 Proz. hatte. Hiernach wären auch von diesem anderen Standpunkte aus die sub cute geimpften Ratten und Mäuse empfindlicher gewesen, als die anderen sub dura geimpften Tiere.

6) Den von Högyes erlangten Resultaten zuwider können die Kaninchen wie auch die Meerschweinchen und die Hunde durch die Tollwut zu Grunde gehen, auch wenn sie mit fixem Virus bei einer Verdünnung von 1:60000 subdural geimpft werden.

7) Während sich die Inkubationsdauer bei den Verdünnungen von 1:100—1:5000 sehr regelmäßig verhielt, zeigt sie sich bei größeren Verdünnungen höchst unregelmäßig.

In der Tat hatte man:

Mit der Emulsion von 1:10000 den Tod in 9—10—13, ja selbst in 29 Tagen, mit der Emulsion 1:20000 in 12 Tagen, mit der Emulsion

1 : 30000 in 24 Tagen, mit der Emulsion 1 : 40000 in 11—22—24 Tagen, mit der Emulsion 1 : 50000 in 22—25 Tagen.

Was das Straßenvirus betrifft, so trat bei der Verdünnung 1 : 40,000 der Tod in 20 Tagen ein und bei der zu 1 : 50,000 in 15 Tagen.

Die Verdünnung des Virus würde also die Inkubationsperiode verlängern und fast in gleicher Weise mag es sich um fixes Virus oder um Straßenvirus handeln.

8) Die Tatsache, daß die tödliche Minimaldosis des fixen Virus und jene des Straßenvirus fast gleich sind (1 : 50000), könnte vielleicht beweisen: a) daß die Anzahl der Keime dieser beiden Arten von Virus, die sich in derselben Menge im Gehirn befinden, ungefähr die gleiche sei; b) daß der Unterschied der beiden Virus folglich nicht in der verschiedenen Menge von Keimen zu suchen sei; c) daß, wenn dieser Unterschied von einem anderen Cyklus der angenommenen Parasiten abhängt, die Verschiedenheit des Cyklus nicht von einer Veränderung in der Gesamtanzahl der Keime begleitet wäre, d) außerdem, auch wenn die Anzahl der Keime im Gehirn der Tiere gleich wäre, ungeachtet ob dieselben durch fixes oder durch Straßenvirus gestorben sind, man durchaus nicht auf eine gleiche Schnelligkeit der Entwickelung der beiden Arten von Virus schließen darf.

Höchstwahrscheinlich ist die Entwickelung des fixen Virus schneller im Nervensystem als die des Straßenvirus, aber beim Tode des Tieres, wenn die Ueberschwemmung von seiten des Virus vollständig ist, könnte die Anzahl der Keime in grober Weise gleichgestellt werden. Es könnte genau dasselbe geschehen, was bei 2 mikrobischen Kulturen in Bouillon geschieht, nämlich die eine entwickelt sich schnell, die andere langsam. Die mit schneller Entwickelung wird schneller als die andere den Höhepunkt der Entwickelung erreichen, aber einmal auf diesem Punkt angelangt, beginnt in beiden die Anzahl der Keime sich auszugleichen.

Das Virus der Hornhautsyphilis des Kaninchens und die Empfänglichkeit der unteren Affenarten und der Meerschweinchen für dasselbe[1]).

[Aus dem Institut für Hygiene der Universität Turin.]

Von Dr. **E. Bertarelli**, Dozent an der Universität Turin.

Nachdem ich bewiesen habe[2]), daß man die Menschensyphilis auf die Kaninchen übertragen kann, wenn man denselben die Krankheit

1) Diese Mitteilung wurde in der Sitzung vom 18. Januar 1907 in der R. Accademia di medicina von Turin gemacht und dabei die entsprechenden Präparate und Tiere gezeigt.

2) Neisser hat bemerkt, daß P. Haensell zuerst die Empfänglichkeit des Kaninchens für Syphilis festgestellt hat (1881), und nach ihm haben einige deutsche Autoren ohne weiteres behauptet — zweifellos ohne eine genaue Kenntnis der Arbeit von Haensell zu haben — daß man diesem Autor verdankt, den Beweis erbracht zu haben, daß die Syphilis auf das Kaninchen übertragen werden kann. Wegen der historischen Richtigkeit will ich nun bemerken: 1) Daß die Beobachtungen von H. (P. Haensell, Vorläufige Mitteilung über Versuche von Impfsyphilis der Iris und Cornea des Kaninchenauges, A. v. Graefes Archiv f. Ophthalmol. Bd. XXVII. p. 93) höchstens den

auf verschiedene Weise in die Hornhaut oder in die Vorderkammer des Auges einimpft, und ich durch einen positiven Spirochätenbefund in der Hornhaut den Beweis der experimentellen Kaninchensyphilis erbracht habe, habe ich versucht, ein Reihenvirus des Kaninchens zu erhalten, wie ich in meiner zweiten Mitteilung über die Uebertragung der Syphilis auf Kaninchen berichtet habe.

In der genannten Mitteilung betonte ich die Bedeutung der Forschungen bezüglich dieses Virus, sowohl wegen der Kenntnisse, welche man über die Abschwächung oder Verstärkung des Virus erwerben würde, wie auch wegen der endgültigen Versuche (nach der Reihenkultur) der auszuführenden Einimpfung auf Affen. Die Beobachtungen, welche ich seit Juli gemacht habe, erscheinen mir so wichtig, daß ich hier über dieselben berichte.

Uebergangsvirus der Hornhautsyphilis. Ich habe das syphilitische Virus fortlaufend von Kaninchen auf Kaninchen übertragen.

In dieser Weise habe ich ausschließlich mit Reihenvirus mehr als 40 Kaninchen inokuliert, und zwar in der bereits früher erwähnten Weise.

Abgesehen von einigen Mißerfolgen bei den ersten Verpflanzungen, habe ich bei diesen Versuchen in 100 Proz. der Fälle positive Resultate erhalten. Ich werde mich hier nicht über die Einzelheiten des Versuchsprotokolls verbreiten, sondern mich nur darauf beschränken, diejenigen Tatsachen festzustellen, welche sich auf eine absolute oder fast absolute Konstanz der Befunde stützen.

Die erste festgestellte Tatsache war folgende: Bei der fortgesetzten Verpflanzung von Hornhaut auf Hornhaut zeigt das Virus der Kaninchensyphilis nicht nur keine Neigung, sich abzuschwächen (für das Kaninchen), sondern erlebte eine unzweifelhafte Verstärkung. Diese Verstärkung bewies sich dadurch, daß alle mit Virus der 4. Verpflanzung und der weiteren (5., 6., 7.) geimpften Kaninchen positiv reagierten, indem sie sehr deutliche syphilitische Veränderungen zeigten.

2) Während es bei den Versuchen mit menschlichem Virus sehr schwer gelingt, die gleichzeitige oder fast gleichzeitige Infizierung

positiven Erfolg der Syphilisübertragung vermuten lassen, daß aber in seiner Arbeit jeder Beweis dafür fehlt, daß die von ihm beobachteten Veränderungen tatsächlich syphilitisch sind. Ueberdies hatte man bei den Kaninchen von H. Veränderungen der Milz und der Leber (makroskopische Knoten mit Riesenzellen, epitheloiden Zellen und lymphoiden Zellen), welche sehr an die Tuberkulose erinnern und den Verdacht der Tuberkulose rege machen. Uebrigens hat H. selbst den Verdacht ausgedrückt, aber jeden Zweifel durch die Feststellung ausgeschlossen, daß die bei seinen Tieren beobachtete Inkubationsperiode etwas länger war als bei der Tuberkulose. Wenn man aber bedenkt, daß kein erschöpfender Beweis für die Uebertragung der Syphilis auf den Menschen gebracht wurde (ich sage „Menschen", weil man zu der damaligen Zeit noch nicht an Affen dachte) und daß man damals auch noch nicht in den Läsionen den noch unbekannten Bacillus der Tuberkulose suchen konnte, begreift man, daß uns jeder erschöpfende Beweis dafür fehlt, daß die von H. beobachteten Veränderungen syphilitischer Natur waren, und als solche können sie mit aller Wahrscheinlichkeit nur nach dem erscheinen, was ich über die Empfänglichkeit des Kaninchens für Syphilis veröffentlicht habe. 2) Daß von 1881 an bis heute die Arbeit von niemandem in Betrachtung gezogen wurde und fast unbekannt blieb und daß man nur nach meinen Befunden diejenigen von Haensell unter einem neuen Lichte hat betrachten können, indem man sie als wahrscheinlich syphilitisch deutete. In jedem Falle hat niemand vor mir einen experimentell positiven Beweis der Empfänglichkeit der Kaninchen für Syphilis erbracht, eine Empfänglichkeit, welche ich durch den ätiologisch spezifischen Befund, durch genügend typische histologische Befunde, durch die Reihenübertragung auf das Kaninchen und am Ende durch die Infektion der Affen durch das Kaninchen-Uebergangsvirus bewiesen habe.

der beiden Augen eines und desselben Kaninchens zu erhalten, gelingt das bei den mit Reihenvirus ausgeführten Versuchen nach der 3. Verpflanzung immer; auch wenn man die Einimpfung in eine Hornhaut 10 Tage nach der Infizierung der ersten ausführt, entwickelt sich immer eine beiderseitige Hornhautinfektion.

3) Die Verletzungen, welche auf diesem Wege bedingt werden, sind immer sehr schwer und viel deutlicher und ausgedehnter als diejenigen, welche sich bei der Infektion mit menschlichem Virus bilden. Es entwickeln sich nämlich ausgedehnte Keratitiden mit einer vollständigen und dauerhaften Trübung, d. h. Verdunkelung, und einer bedeutenden Verdickung der Hornhaut und mit ausgedehnten Gefäßneubildungen. In gewissen Fällen folgt einem Anfange von Rückbildung der parenchymatösen Keratitis eine Neubildung von Bindegewebe mit Bildung von Gefäßen, und die unregelmäßige, warzenförmige Neuproduktion dehnt sich vom Hornhautfalz über große Abschnitte der Hornhaut aus. Oft kommen schwere Veränderungen der Hornhautkonvexität dazu, so daß man verschiedene, aber immer sehr schwere Verletzungen beobachtet.

Die Verletzungen greifen sehr oft auf die Iris und auf die Processus ciliares über, während bei der Infektion durch menschliches Virus die Veränderungen der Iris sehr selten sein sollen und von mir jedenfalls nie beobachtet worden sind.

Man kann die Bildung von mehr oder weniger hervorstehenden und stellenweise zahlreich angesammelten Knötchen, eine Erweiterung der dem Corpus ciliare entsprechenden Gefäße und die Bildung von Irissynechien beobachten.

4) In diesen Verletzungen finden sich die Spirochäten konstant und zahlreich. Ich habe schon in meiner zweiten Mitteilung betont, daß die Spirochäte von den Hornhautverletzungen verhältnismäßig schnell verschwindet und daß auch, wenn noch die Lymphocyteninfiltration (äußerlich durch einen mehr oder minder schweren Hornhautpannus vertreten) deutlich sichtbar ist, die Spirochäten schon verschwunden sein können.

Bezüglich des Reichtums an Spirochäten wiederhole ich, was ich in meiner ersten Mitteilung gesagt habe; dieselben findet man tatsächlich in einem und demselben mikroskopischen Bilde zu Hunderten.

Alle die Einwendungen von Saling bezüglich der Zahl der Spirochäten in den mit Silbernitrat durchtränkten Hornhautschnitten fallen vor der Tatsache, daß man auch in den Hornhautausstrichen (Schucht) die typischen, mit Giemsas Flüssigkeit färbbaren Spirochäten findet.

Und diese Beobachtung spart mir jede weitere Besprechung der gegen diesen Befund gemachten Einwendungen.

5) Die Wahrscheinlichkeit weiterer Erscheinungen in den mit Reihen- oder Uebergangsvirus infizierten Kaninchen. Bei 2 Kaninchen, denen ein Virus 6. resp. 7. Ueberganges eingeimpft worden war, beobachtete ich $2^1/_2$ Monate nach der Einimpfung, als die Augenverletzungen bereits seit 3—6 Wochen deutlich sichtbar waren, eine Lähmung der hinteren Extremitäten.

Bei beiden Tieren entstand die Lähmung in derselben Weise; zuerst zeigten sie nur eine gewisse Schwierigkeit in den Bewegungen der hinteren Glieder, welcher dann eine vollständige Lähmung folgte. Die Tiere starben nach einiger Zeit infolge der Geschwüre, welche sich an den auf der Erde herumgeschleiften Extremitäten gebildet hatten.

Augenblicklich kann eine Beurteilung der Natur dieser Veränderungen noch nicht durch einen beweisenden ätiologischen Befund bestätigt

werden; ich habe aber zahlreiche Stücke in Untersuchung und werde eventuell über den Gegenstand berichten. Jedenfalls hat die Lähmung deshalb, weil sie in beiden Tieren mit gleichen funktionellen Störungen und mit gleicher zeitlicher Entfernung vor der Augenläsion aufgetreten, eine gewisse Bedeutung, und ich erwähne hier die Erkrankung, welche ich als eine sehr wahrscheinliche, obwohl noch nicht ätiologisch bewiesene, sekundäre Erscheinung der Syphilis betrachte.

Bezüglich der Form der Spirochäten zeigt das Reihenvirus nichts Besonderes, weshalb ich auf meine erste und zweite Mitteilung verweise.

Bezüglich der Inkubation bemerke ich nur, daß die in der vorher erwähnten Weise bewiesene Verstärkung des Virus durch die verschiedenen Uebergänge nicht in einem wahrnehmbaren Grade beeinflußt worden zu sein scheint. Höchstens neigt diese Inkubationsperiode dazu, konstanter zu werden; nach dem dritten Uebergange dauerte die Inkubation gewöhnlich 3—4 Wochen und nur sehr selten mehr als einen Monat.

Nun fragt es sich, ob diese Beobachtungen eine wirkliche Verstärkung der Tätigkeit der Spirochäten beweisen, oder ob diese Verstärkung nicht als eine Adaptation des Virus zum Leben in der Kaninchenhornhaut — welche jedenfalls, nach den morphologischen Befunden, einen vorzüglichen Kultur- und Entwickelungsboden bildet — zu deuten ist, oder endlich, ob diese Verstärkung des Kaninchenvirus nicht davon abhängt, daß sich in der infizierten Hornhaut gewöhnlich mehr Spirochäten befinden, als in einem Initialsyphilom oder in einer Papula mucosa des Menschen. Die Frage ist nicht leicht zu beantworten; auf Grund der größeren Prozentzahl der positiv ausgegangenen Einimpfungen und der größeren Schwere der Augenläsionen erschiene es wohl wahrscheinlich, daß neben der größeren Zahl der Spirochäten auch eine bessere Anpassung derselben an den durch die Hornhaut dargebotenen Kulturboden eine Rolle spielt.

Dieses Hornhautvirus eignet sich sehr gut dazu, die Empfänglichkeit der Tiere für die *Spirochaete pallida* zu prüfen, und auf Grund dessen, was ich über die Empfänglichkeit der Meerschweinchen für Syphilis sagen werde, glaube ich, daß manche Tiere, welche für das menschliche Syphilisvirus unempfänglich sind, es dagegen nicht für das Kaninchenvirus sind, was beweisen würde, daß bei dem Uebergange durch die Kaninchen eine Anpassung der Spirochäten an die neuen Lebensverhältnisse stattfindet, wie bei anderen Krankheitserregern mehrfach beobachtet worden ist.

Des weiteren werden durch die Möglichkeit, im Laboratorium mit großer Leichtigkeit und auf sehr ökonomischem Wege ein so reines Virus zu erhalten, wie man es durch Kulturen nicht besser haben könnte (wer viele Hornhautpräparate von syphilitischen Kaninchen untersuchen kann, wird sich leicht davon überzeugen), den Forschungen über das Verhalten des Syphilisvirus gegenüber den physikalischen und chemischen Agentien, über seine Widerstandsfähigkeit, seine Umwandlungen u. s. w. ganz neue Bahnen geöffnet.

Empfänglichkeit der unteren Affenarten für das Hornhaut-Uebergangsvirus. Am Ende meiner zweiten Mitteilung betonte ich die große Bedeutung, welche der Versuch haben würde, das Hornhaut-Uebergangsvirus den Affen einzuimpfen. Dadurch konnte man nicht nur feststellen, ob es sich um eine wirkliche Syphilis des Kaninchens handle, sondern man konnte auch einen, wenn nicht ganz gleichen, je-

doch sehr ähnlichen Versuch anstellen, wie derjenige, welchen man am Affen mit einer Kultur von *Spirochaete pallida* hatte machen können.

Das „Ministero della Pubblica Istruzione" hat mich bei meinen Versuchen in dieser Richtung durch eine kleine Summe unterstützt. Die Resultate meiner Versuche waren vom Standpunkte der Biologie sehr interessant.

Ein Kaninchenvirus 5. Ueberganges wurde 3 Affen (*Inuus cynomolgus*) eingeimpft, und zwar wurden die 3 Tiere alle am 27. November 1906 geimpft.

Dem ersten (I) wurden die zwei Augen dadurch infiziert, daß man in die Vorderkammer der Augen einen Tropfen von zermahlenem Hornhautvirus einspritzte.

Dem zweiten (II) wurde ein Augenlid verletzt und auf die Stelle der Verletzung einige Zeit ein Stück von einer infizierten Kaninchenhornhaut gehalten.

Der dritte (III) wurde wie II behandelt und außerdem wurde ihm noch ein Teilchen Virus in die Vorderkammer des Auges eingeimpft.

Am 18. Dezember zeigte der Affe I an beiden Augen eine leichte Verdunkelung der Hornhaut, welche dann allmählich intensiver wurde. Da das Tier einem wachsenden Verfall der Kräfte entgegenging (wegen einer entstandenen Lungen- und Nierenentzündung), wurde ihm am 21. Dezember ein Auge exstirpiert. Am 22. Dezember starb der Affe und zeigte dabei schwere und akute Veränderung, natürlich nicht syphilitischer Natur, der Lungen.

Es wurde die Hornhaut untersucht, in welcher eine parenchymatöse Keratitis mittlerer Intensität und eine große Ansammlung von mononukleären Zellen gefunden wurde; daneben fand man zahlreiche Spirochäten, aber keine anderen Keime.

Ein Stückchen dieser Hornhaut wurde einem Kaninchen in die Hornhaut eingespritzt, wo sich nach 19 Tagen eine Keratitis entwickelte; dieselbe war ganz derjenigen ähnlich, welche sich nach Einimpfung von Uebergangsvirus im Kaninchen entwickelt.

Bei dem Affen II war die kleine künstliche Verletzung des Augenlides nach 3 Tagen geheilt und nach 3 Tagen war kein Zeichen mehr davon sichtbar.

Am 20. Dezember fand man an der Stelle der Verletzung eine harte, gerötete, infiltrierte, deutlich abgegrenzte, von einigen Schuppen bedeckte Zone; am 22. Dezember war die Läsion hervorstehend und fühlbar, und zwar fühlte man sie hart und von der Umgebung deutlich begrenzt; am 23. Dezember sah man auf ihrer Oberfläche einige Schuppen.

Die Verletzung wurde von Fachleuten untersucht, welche ein initiales, papulo-squamöses Syphilom diagnostizierten.

Am 1. Januar 1907 fing eine Rückbildung des Prozesses an, weshalb die Exzision der Papel vorgenommen und letztere untersucht wurde. Dabei fand man eine große Anzahl Spirochäten.

Gleiche Erscheinungen wie bei II fand man am 19. Dezember beim Affen III an der Stelle der Augenlidverletzung. Am 7. Januar fing eine Rückbildung des Syphiloms an und am 17. desselben Monats sah man nur noch eine kleine, verhärtete Zone von einer fast normalen Farbe.

Im geimpften Auge fand man beim Affen III am 5. Januar eine kleine Verdunkelung der Hornhaut, welche sich in den nächsten Tagen ausdehnte. Gleichzeitig erscheinen die Conjunctiva sclerae und der dem Processus ciliaris entsprechende Teil der Bindehaut stark injiziert. Am

17. Januar sind die Veränderungen am Auge vollständig entwickelt und gleichen ganz denselben, welche man gewöhnlich nach Einimpfung von Uebergangsvirus beobachtet.

Aus meinen Versuchen kann man also schließen, daß das Uebergangsvirus von Kaninchen im stande ist, in dem Makako (*Inuus cynomolgus*) syphilitische Veränderungen der Haut und der Hornhaut hervorzurufen, auch wenn man ein Virus 5. Ueberganges anwendet.

Diese Tatsache hat nicht nur in dem Sinne eine große Bedeutung, daß nach diesem Versuche jeder Zweifel über die wirkliche Natur der Syphilis des Kaninchens verschwindet, sondern ist auch in Bezug auf die wirkliche Bedeutung der *Spirochaete pallida* von großem Interesse.

Jedenfalls können diese Hornhaut-Uebergangskulturen von Spirochäten noch nicht mit den Uebergangskulturen in vitro verglichen werden, und man kann immer einwenden, daß zwar die Spirochäte in der Hornhaut sich gut entwickelt, daß aber gleichzeitig daselbst auch der Erreger der Syphilis gut entwickelt ist.

Diese Einwendung hat aber keinen großen Wert, da man dasselbe auch gegen die gewöhnlichen isolierten Kulturen einwenden könnte, bei denen man ja auch nicht ausschließen kann, daß neben den kultivierten Keimen sich auch ein unbekannter Stoff entwickelt, welcher das wirkliche Virus darstellt.

Sicher ist in jedem Falle, daß wir bei den Reihenverpflanzungen in die Hornhaut der Kaninchen Reinkulturen von Spirochäten erhalten und daß von dem ursprünglichen Virus nach 5—6 Uebergängen keine Spuren mehr existieren können, und wenn auch dadurch nicht die oben erwähnte Einwendung beseitigt wird, trägt doch der positive Ausgang der Impfung des Makako mit diesen Hornhautkulturen dazu bei, der durch zahlreiche andere Beobachtungen bereits bestätigten Annahme, daß die *Spirochaete pallida* das ätiologische Agens der Syphilis ist, einen größeren Wert zu verleihen.

Nun kommt es in Frage, ob der auf diesem Wege mit Syphilis infizierte Makako für die menschliche Syphilis empfänglich ist oder nicht. Das zu erforschen habe ich mir eben vorgenommen.

Aus den Resultaten meiner Versuche kann man nicht schließen, ob das Kaninchenvirus in den unteren Affenarten eine Syphilis verursacht, welche im Vergleich mit der durch menschliches Virus hervorgerufenen Syphilis abgeschwächt ist.

Bekanntlich verursacht auch das menschliche Syphilisvirus im Makako (wie übrigens im allgemeinen in allen unteren Affenarten) an der Stelle der Einimpfung verhältnismäßig leichte Veränderungen, während die sekundären Erscheinungen fehlen, und die zwei in der Literatur über Syphilis berichteten Fälle von sekundären Läsionen bei den unteren Affen sind so unsicher und umstritten, daß man ihnen absolut keinen Wert zuschreiben kann.

Deshalb kann man — vom Standpunkte des wissenschaftlichen Positivismus — nicht die oben erwähnten Läsionen der mit Kaninchenvirus geimpften Affen als leichter oder schwerer im Vergleich mit der im Makako durch menschliches Virus verursachten Syphilis klassifizieren. Ebenso kann eine Frage praktischer Natur, ob das Kaninchenvirus für den Affen abgeschwächt ist, nicht auf diesem Wege gelöst werden, und man wird dazu höhere Affen verwenden müssen.

Es kann auch von diesem Standpunkte aus der Versuch mit dem Menschen angezeigt sein.

Von der neuestens von Metschnikoff und Roux[1]) gemachten Beobachtung ausgehend, aus welcher man folgern kann, daß das syphilitische Virus des Makako für den Menschen abgeschwächt ist, erscheint es um so mehr angezeigt, einen Versuch am Menschen mit Kaninchenvirus anzustellen.

Ich habe auch nach Personen gesucht, welche freiwillig dem Versuche sich unterziehen sollten, aber bis jetzt keine gefunden.

Bis jetzt ist festgestellt, daß der Makako für das Uebergangsvirus aus dem Kaninchen empfänglich ist und daß dieses Virus bei den Affen Erscheinungen hervorruft, welche mit denjenigen vergleichbar sind, welche man bei den Affen durch menschliches Virus erhält.

Andere Versuche, welche ich angefangen habe, beziehen sich auf die Immunisierung auf subkutanem Wege gegen die Hornhautinfektion, auf die erbliche Uebertragung der Syphilis oder der Immunität gegen die Hornhautsyphilis bei Kaninchen.

Empfänglichkeit anderer Tiere für das Uebergangsvirus des Kaninchens. Schon zu Beginn meiner Forschungen über die Uebertragung der Syphilis auf das Kaninchen hatte ich versucht, diese Krankheit auf das Meerschweinchen zu übertragen. Aber mehrere in diesem Sinne ausgeführte Versuche hatten mich von der Unmöglichkeit überzeugt, dieses Tier durch menschliches Virus mit Syphilis zu infizieren. Die Erhaltung eines Hornhaut-Uebergangsvirus veranlaßte mich aber dazu, den Versuch mit dem Meerschweinchen und anderen Tieren zu wiederholen.

Es wurden zu diesem Zwecke Tiere verschiedener Art mit verschiedenem Uebergangsvirus (6., 7. Ueberganges) geimpft, und zwar mehrere Meerschweinchen, Hühner, Hunde, ein Schaf und einige Schweine, welche letztere sich bei Einimpfung mit menschlichem Virus sowohl ins Maul als in die Hornhaut unempfänglich gezeigt hatten.

Augenblicklich hat mein Versuch beim Meerschweinchen einen ohne Zweifel positiven Erfolg gehabt und der mikroskopische Befund hat den makroskopischen bestätigt. Ueber die anderen, größtenteils seit kurzer Zeit geimpften Tiere kann ich noch kein Urteil aussprechen; beim Schweine zeigte sich jedoch schon in der Hornhaut eine deutliche Reaktion mit mäßiger Intensität. Ein sicheres Urteil wird aber erst ein intensiver Hornhautprozeß und ein positiver mikroskopischer Befund erlauben. Jedenfalls glaube ich, die beobachteten Erscheinungen als spezifisch betrachten zu können.

Was nun die Meerschweinchen anbelangt, so habe ich am 22. Dezbr. 1906 3 derselben mit Virus 6. Ueberganges geimpft; 2 haben keine Reaktion gezeigt; bei dem 3. habe ich aber eine am 6. Januar, also 14 Tage nach der Einimpfung, entstandene Hornhautläsion gefunden. Am 9. Januar habe ich, da ich einen Anfang von Entzündung beobachtete und die Entwickelung eines sekundären Prozesses fürchtete, das Auge exstirpiert und die Hornhaut, nachdem ich sie gründlich mit einer physiologischen Kochsalzlösung gewaschen hatte, um den Verdacht einer Verunreinigung der primitiven Impfung zu beseitigen, fixiert.

Aus der mikroskopischen Untersuchung ergab sich eine leichte, kleinzellige Infiltration zwischen den Lamellen. Die Ansammlung war in der Gegend des Limbus cornealis am ausgesprochensten.

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1906.

Zwischen den Lamellen beobachtete man nicht sehr zahlreiche Spirochäten; in einigen Feldern fand man jedoch 6—7 derselben. Diese Spirochäten erschienen weniger deutlich und kürzer als diejenigen der Kaninchenhornhaut; einige enden an einer Seite kuppelförmig und sind oft krumm. Ohne Zweifel vermehren sie sich hier schlechter als in der Kaninchenhornhaut (schlechtere Anaërobiosis wegen der geringeren Dicke der Hornhaut?) und die beobachteten Veränderungen sind auch geringer. Jedenfalls sind sie zwischen die Lamellen eingedrungen, wo sie als Reaktionsprozeß eine Mononukleose hervorgerufen haben.

Am 3. Januar habe ich den Versuch mit Virus 7. Ueberganges wiederholt. Von 4 Meerschweinchen, welche ich impfte, reagierte 1 am 17. Januar mit einer typischen Keratitis. Die übrigen 3 zeigen bis jetzt keine sichtbaren Veränderungen.

Deshalb bleibt es festgestellt, daß in einer kleinen Zahl der Fälle auch bei den Meerschweinchen eine Spirochätenkeratitis erhalten wird, welches jedoch nicht gegen menschliches Virus empfänglich scheint. Die Veränderungen, welche man bei den Meerschweinchen beobachtet, unterscheiden sich substantiell nicht von denjenigen, welche sich beim Kaninchen entwickeln. Von den ersteren kann aber eine geringere Zahl infiziert werden, die Veränderungen sind auch geringer und geringer ist am Ende auch die Zahl der Spirochäten. Außerdem entwickeln sich bei Meerschweinchen viel leichter akute Augeninfektionen, wegen welcher man auf die Fortsetzung der Beobachtung verzichten muß.

Die Tatsache, daß die Meerschweinchen auch für das Uebergangsvirus empfänglich sind, hat deshalb eine große Bedeutung, weil sie zur Annahme führt, daß beim Uebergange auf das Kaninchen das Virus sich so verändert, daß es vielen anderen Tieren mit positivem Erfolge inokulierbar wird.

Die Versuche, mit welchen ich beschäftigt bin, werden, wie ich hoffe, auch diesen Punkt der Frage beleuchten.

Wenn ich nun das bis jetzt Gesagte zusammenfassen will, komme ich zu folgenden Schlußfolgerungen:

Die Syphilis kann beim Kaninchen eine Hornhautinfektion hervorrufen, welche in Uebergangsreihen übertragbar ist. Bei dieser Reihenübertragung findet eine entschiedene Verstärkung des Virus statt, während sich der Befund zahlreicher Spirochäten konstant erhält.

Beim Kaninchen kann man außerdem spätere Nervenveränderungen beobachten, welche vielleicht der syphilitischen Infektion zuzuschreiben sind.

Mit dem Uebergangsvirus kann man den Makako infizieren, in welchem typische Haut- und Hornhauterscheinungen entstehen.

Am Ende zeigt sich das Virus auch für Meerschweinchen aktiv, welche man durch dasselbe mit Syphilis infizieren kann, und vielleicht sind auch manche andere Tiere (Schweine) für die Kaninchensyphilis empfänglich.

Experimentelle Studien über Syphilis.

[Aus dem Zoologischen Institut der Universität Berlin (Vorstand: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. F. E. Schulze).]

I. Impfsyphilis der Affen.

Von **J. Siegel.**

Mit 13 farbigen Bildern auf 2 Doppeltafeln und 7 Figuren.

Versuche, die Syphilis auf Tiere zu übertragen, sind seit längerer Zeit in großer Zahl gemacht worden. Eine Zusammenstellung solcher Experimente bis zum Jahre 1883 findet man in dem Werke von Proksch (1). Besonders beachtenswert erscheinen mir die von Tarnowsky (2) an Pferden gemachten Impfungen, die vor kurzem von Piorkowski (3) wiederholt wurden. Sie zeigten Ergebnisse, die aus mehreren Gründen mit großer Wahrscheinlichkeit dafür sprechen, daß eine Impfung mit Syphilis bei dieser Tierart tatsächlich möglich ist. Doch zu einer allgemeinen Anerkennung haben es diese Versuche nicht gebracht, wohl besonders wegen der geringen Anzahl der Impftiere und weil der einwandsfreie Beweis der Spezifizität der Erkrankung durch Rückimpfung auf Affen, bei denen als Syphilis diagnostizierbare Veränderungen nach der Impfung auftreten, bisher fehlte. Der Wiederholung bedürftig scheinen mir auch die von Hügel und Holzhauser (4) an Schweinen vorgenommenen Impfungen zu sein, auch hier wäre Rückimpfung auf Affen für die Beurteilung entscheidend.

Auf Rinder verimpfte ich syphilitisches Material, indem ich zwei jungen Stieren große Mengen von Emulsionen von Papeln und inneren Organen von Menschen und Affen subkutan einverleibte.

Das Resultat war ein zweifelhaftes. Besondere Störungen des Allgemeinbefindens konnte ich nicht konstatieren, auch nicht erhebliche Schwankungen der Körperwärme. Doch sah ich bei dem einen Tier im 3. Monat nach der Impfung an Hals, Bauch und Brust eigentümliche, etwa fünfmarkstückgroße Plaques auftreten, Verdickungen der Cutis, die zum Teil seröse Flüssigkeit sezernierten, zum Teil verschorft waren. Kutane Impfungen mit einer Emulsion von inneren Organen dieses Tieres auf einen *Macacus rhesus* zeigten keinen mit Sicherheit diagnostizierbaren Erfolg. Einen bestimmten Rückschluß auf die Natur dieses an Dourine erinnernden Exanthems beim Rinde kann ich demnach nicht machen.

Im Laufe der letzten beiden Jahre habe ich außerdem bei etwa 70 weißen Mäusen und 10 weißen Ratten versucht, Material von syphilitischer menschlicher Placenta, von Sklerosen und Organen syphilitischer Neugeborener zu verimpfen. Das Material wurde emulgiert im Verhältnis von 1 : 3 mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit Glycerinwasser āā und entweder in der Menge von 0,5—1 ccm unter die Rückenhaut gespritzt oder in geringerer Menge in eine an der Schwanzwurzel angelegte Hauttasche gebracht. Von allen diesen Tieren sah ich nur bei zweien an der Einstichstelle der ziemlich dicken Kanüle im Laufe der 4. Woche nach einer Impfung mit Placentaemulsion eine harte Hautgeschwulst bis zur Größe einer kleinen Erbse anwachsen und dann in der Mitte in Ulceration übergehen. Die Schnitte dieser Geschwülste

zeigten alle Merkmale einer echten menschlichen Sklerose im mikroskopischen Bilde, so daß Dermatologen, denen ich solche Schnitte vorlegte, nicht im stande waren, das Bild von dem einer menschlichen Sklerose zu unterscheiden. An den überlebenden Mäusen war sehr auffällig, daß sie sämtlich nach mehreren Monaten unter den Erscheinungen allgemeiner Abmagerung eingingen. Eine Stelle aus einer solchen Mäusesklerose habe ich in der Münchener medizinischen Wochenschrift No. 5 als Photogramm zur Darstellung gebracht. Diese Versuche an Mäusen gedenke ich gelegentlich mit sehr großen Mengen von Tieren zu wiederholen. Es scheint, als sei die Erzeugung von sichtbaren Hauterscheinungen sehr individuell; nur bei Verwendung sehr zahlreichen Tiermaterials kann man sicher sein, sie wieder zu finden.

Von Meerschweinchen impfte ich etwa 10 nach Legros (6), Bradleys und Döhles (8) Vorgang. Die Organe von zwei Tieren übertrug ich auf einen *Macacus rhesus* subkutan, auf einen andern kutan, bei keinem der beiden war der Erfolg so deutlich sichtbar, daß ich ihn mit Sicherheit als positiv bezeichnen konnte. Ueber die Meerschweinchensyphilis kann ich daher nichts Bestimmtes aussagen, obgleich ich geneigt bin, sie ebenso wie bei den Kaninchen für möglich zu halten.

Bei allen vorgenannten Tierarten erfreut sich die Impfsyphilis noch nicht der allgemeinen Anerkennung. Nur bei Kaninchen und Affen gibt man jetzt allgemein die Empfänglichkeit zu. Schon Auzias-Turenne (9), Waller (10) und Haensell (11) wollten bei Kaninchen positive Uebertragungen der Syphilis erzielt haben, konnten den Beweis für die Richtigkeit ihrer Behauptungen aber nicht erbringen, da einwandsfreie Rückimpfungen auf Menschen resp. Affen nicht gemacht wurden. In Gemeinschaft mit Walter Schulze habe ich sodann vor 2 Jahren eine sehr große Anzahl von Kaninchen zum Teil subkutan, zum Teil intraokular, mit Ritzung der Iris, geimpft und dabei das Auftreten von Irisknötchen und spezifische Veränderungen der Irisgefäße sowie bei einem Teile der Tiere Siechtum mit eigentümlichen Erkrankungen der Haut, besonders am Kopf und an den Füßen, beobachtet[1]). Bei einem Tier wurde die Leber nach 3 Monaten mit miliaren Knötchen durchsetzt gefunden (siehe Photogramm einer solchen Stelle Fig. 3 der Tafel in der Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2). Auch gelang es, durch Paarung derartig syphilitisch gemachter Kaninchen einmal 2 Junge zu erzeugen, die kurz nach der Geburt starben und eigentümliche Hauterscheinungen zeigten. Die Beine, besonders die Fußsohlen, auch der Schwanz, waren sehr stark ödematös geschwollen und dicht mit Petechien besetzt. Die mikroskopischen Schnitte ergaben an diesen Stellen auch größere Austritte von Blut in das sulzige Unterhautbindegewebe. Zum Beweise, daß die von uns mit syphilitischem Material geimpften Tiere auch wirklich hierbei syphilitisch geworden waren, impften wir mehrere Affen zum Teil mit Irisknötchen, zum Teil mit inneren Organen und erzielten bei denselben typische Erscheinungen. Schon in der Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 29 habe ich diese erfolgreichen Uebertragungen von Kaninchen auf Affen erwähnt und damit zum ersten Male die Tatsache der Möglichkeit einer erfolgreichen Impfung der Kaninchen mit Syphilis festgelegt. Versuche anderer Experimentatoren, diese Uebertragung zu wiederholen, mißglückten zunächst, bis 1906 Scherber (12) durch Verimpfung von Augenteilen und später Neisser (13)

1) Aehnliche schwere Hauterscheinungen beobachtete Uhlenhuth bei Kaninchendourine (Berl. med. Ges. 1907. 13. Febr.).

je einmal durch erfolgreiche Uebertragung von Irisknötchen und letzterer auch von inneren Organen syphilitischer Kaninchen auf Affen die Richtigkeit der von mir und Schulze (14) zuerst erwiesenen Kaninchensyphilis erhärteten.

Die Neissersche Darstellung, als ob Bertarelli (15) der eigentliche Entdecker der Kaninchensyphilis sei, ist geeignet, eine ganz falsche Auffassung dieser Frage hervorzurufen. Bertarelli konnte den Beweis, daß seine Kaninchen an Syphilis litten, nicht durch Uebertragung auf Affen erbringen, sondern glaubte, den Charakter der Augenerkrankung durch Nachweis sogenannter Silberspirochäten in der Cornea des geimpften Tieres führen zu können. Abgesehen davon, daß diese Pseudospirochäten, wie W. Schulze (16), Saling (17) und H. Friedenthal (18) bewiesen haben, überhaupt keine Parasiten, sondern deformierte Gewebsfasern sind, würde auch der Beweis von wirklichen Spirochäten an den geimpften Augenpartieen nichts für Syphilis beweisen können, da der Beweis, daß Spirochäten mit dieser Krankheit etwas zu tun haben, noch von keiner Seite erbracht ist.

Hier möge gleich eine Bemerkung Platz finden, welche für diesen ganzen vorliegenden ersten Teil meiner Abhandlung Geltung hat. Bei der Beschreibung meiner experimentellen Resultate werde ich absichtlich nirgends die Befunde von Cytorrhycten, der von mir als Syphiliserreger angesehenen Parasiten, erwähnen. Ich glaube, der ganzen Darstellung der Experimente einen mehr objektiven Hintergrund zu geben, wenn ich darauf verzichte, ein Beweismittel, das noch der Anerkennung harrt, in Anwendung zu bringen und hüte mich so vor einem falschen Zirkelschluß, der bei den vielen Anhängern der Spirochätentheorie befremdet, indem sie nicht selten für den Syphilischarakter einer Impfung nichts anderes anzuführen haben, als den Nachweis von Spirochäten, die in vielen Fällen überhaupt Silberspirochäten, also nach Saling und W. Schulze nur Nerven- oder andere Gewebsfasern sind.

Außer der Kaninchensyphilis gilt jetzt die Affensyphilis als anerkannt, besonders nachdem Metschnikoff und Roux an einer Anzahl von anthropoiden Affen frühere Beobachtungen von Affensyphilis bestätigen konnten. Die erste positive Impfung eines Affen mit allen für Syphilis charakteristischen Erscheinungen ist schon im Jahre 1879 Klebs (19) gelungen. Mir scheint dieses wichtige Experiment in der Literatur nicht genügend gewürdigt zu werden. Es soll daher an dieser Stelle ausführlicher zur Darstellung gelangen.

Klebs impfte am 29. Dez. 1877 mit einem exstirpierten Schanker, dessen luetische Natur durch das spätere Erscheinen typischer syphilitischer Erscheinungen bei dem Menschen, von dem es stammte, bewiesen wurde. Je ein Stück dieses Materials wurde unter die Bauchhaut und unter die Haut an der Innenfläche der hinteren linken Extremität eingeführt und heilte daselbst ohne jede Reaktionserscheinung ein; die Lymphdrüsen schwollen in der linken Inguinalgegend zwar etwas an, jedoch in nicht erheblicher Weise, so daß es überhaupt schwer war, sich davon Rechenschaft zu geben, ob eine leichtere chronische Schwellung zurückgeblieben war. Das Tier schien beinahe durch 6 Wochen vollkommen gesund. Am 6. Febr. beobachtete man Frösteln, Freßunlust und Diarrhöe, am 8. Febr. 40,3°, am 9. Febr. 38,3° und bläuliche Flecken im Gesicht; am Tage darauf waren einige der Flecken in flache Hervorragungen umgewandelt, welche zum Teil, vielleicht infolge des Kratzens, näßten. Am 13. Febr. weitere Eruption von Papeln an Gesicht, Wange,

Stirn und Lippenschleimhaut. In wenigen Tagen war jede Eruption verschwunden und das Fieber kehrte nicht wieder. Der Affe starb am 17. Mai 1878. Die Sektion ergab krankhafte Veränderungen an den Schädelknochen, an der Niere und der Lunge. Ueber die Veränderungen der Schädelknochen habe ich bereits in meiner Veröffentlichung in der Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2 berichtet und ein von mir aufgenommenes Originalphotogramm des Klebsschen Affenschädels, den mir Herr Prof. Chiari aus Prag zu schicken die Güte hatte, reproduziert. Ueber die Erkrankungen der Organe sagt Klebs: „Die mikroskopische Untersuchung der Organe des Tieres ergab an allen pathologisch veränderten Stellen höchst übereinstimmende Resultate, welche jeden Gedanken an eine mögliche Verwechselung mit zufällig entstandener Tuberkulose absolut unmöglich machen. Vorerst kommt der Befund in den Knoten der Nieren in Betracht, bei denen schon das makroskopische Verhalten gegen die tuberkulöse Natur sprach. Die gleichmäßige, durchscheinende Beschaffenheit derselben, das Fehlen käsiger Einlagerungen, sowie miliarer Knoten in der Nachbarschaft ließen einen solchen Gedanken nicht leicht aufkommen. Die histologische Zusammensetzung aber widersprach ihr vollends; denn die ganze Veränderung wird von einer gleichmäßigen Zunahme des interstitiellen Gewebes gebildet, bewirkt auch die Einlagerung zum Teil langer, sehr schön ausgebildeter Spindelzellen, zum Teil auch von kürzeren Elementen, welche ein glänzendes Protoplasma um einen großen bläschenförmigen Kern besitzen, in die bindegewebige Grundsubstanz. In dem zentralen Teile der Knoten sind die Harnkanälchen komprimiert, in den peripheren gut erhalten. Ebenso überzeugende Präparate lieferte die Untersuchung der Herde in den Lungen. Wo jüngere Knoten oder die peripherischen Teile älterer untersucht wurden, da bestand die wesentliche Veränderung, wie in der Niere, aus einer interstitiellen Einlagerung der gleichen großkernigen Elemente wie sie vorher beschrieben wurden. Dieselben umschlossen in dichtester Weise die mit Zellen und zum Teil mit Faserstoffmassen erfüllten Alveolen. Innerhalb der interstitiellen Neubildung waren die Blutgefäße noch größtenteils erhalten und mit Blutkörperchen gefüllt, wodurch auch eine erhebliche Differenz gegenüber tuberkulösen Bildungen gegeben ist. Der Alveoleninhalt zeigt in den mit chromsauren Salzen gehärteten Präparaten sehr große und schön erhaltene eckige Zellen als Auskleidung der Wandung, Elemente unzweifelhaft epithelialer Natur. Nach innen von denselben findet sich dann der gewöhnliche Inhalt bei pneumonischer Veränderung, Faserstoff, Lymphzellen und rote Blutkörperchen. In den älteren Knoten kann man nur eine gegen das Zentrum zunehmende Verkleinerung der Alveolen und gleichzeitig eine Zunahme der wuchernden interstitiellen Gewebe wahrnehmen. Endlich kamen Stellen, in denen von den Alveolen gar nichts mehr zu sehen, sondern nur ein gleichmäßiges kleinzelliges Gewebe vorliegt, dessen Elemente zum Teil verfettet und in einer derben netzartigen Grundsubstanz eingebettet liegen.

Auch an diesen Stellen fehlt es an den für tuberkulöse Prozesse so charakteristischen kugeligen Anordnungen der neugebildeten Massen, welche durch Verschmelzung kleinerer Herde hervorgebracht werden. In den großen bindegewebigen Zügen endlich, welche die größten Knoten umhüllen und die großen Gefäße und Bronchien begleiten, findet sich nur Spindelzellengewebe."

Klebs schließt seine Beschreibung mit den Worten: „Danach kann ich wohl mit voller Beruhigung die Ueberzeugung aussprechen, daß es sich in diesem Falle um echte syphilitische Affektion handelt; wem die Lungenveränderungen bei Syphilis weniger geläufig sind, wie dies ja leider noch bei vielen der Fall ist, den möchte ich auf die Nierenaffektion verweisen, welche wenigstens den Vorzug hat, daß sie nach der negativen Seite völlig unantastbar ist. Was die Lungenaffektion betrifft, so möchte ich aber aus eigener Erfahrung erwähnen, daß absolut übereinstimmende Veränderungen gar nicht selten bei Syphilis der Menschen gefunden werden. Wenn es überhaupt eine sichere pathologisch-anatomische Diagnose gibt, so möchte ich sie für diesen Fall in Anspruch nehmen.“

Der zweite unzweifelhaft als sichere Uebertragung von Syphilis auf einen Affen zu betrachtende Fall, ebenfalls mit beweisenden Sekundärerscheinungen, ist der von Martineau (20), der mir ebenfalls einer ausführlicheren Wiedergabe wert zu sein scheint, die ich aus den Sitzungsberichten des 8. internationalen medizinischen Kongresses zu Kopenhagen entnehme.

Mit dem Serum eines infektiösen Schankers von der rechtsseitigen Schamlippe einer Kranken wurde am 16. Sept. 1882 auf die Vorhaut des Penis einer ungefähr 15 Jahre alten Meerkatze geimpft. Am 14. Dez. 1882 zeigen sich zwei infektiöse Schanker an zwei Impfstellen. Diese beiden Schanker vernarben, der eine am 10. der andere am 11. Jan. 1883. Während ihres Auftretens multiple Drüsenschwellung an der Schamleiste, in der Submaxillargegend und in der rechten Achselhöhle. Im Januar 1883 Auftreten ulceröser Syphilide am Gaumenbogen, während 3 Wochen bestehend, Heilung mit Hinterlassung weißer linearer Narbe. 21. Okt. 1883 epileptische Anfälle, 4 oder 5 Tage dauernd. 3. Dez. 1883 papulohypertrophisches Syphilid an der rechten Hälfte des Scrotums. Dauer $1^1/_2$ Monate. 18. Januar 1884 mehrere papuloerosive Syphilide am Gaumenbogen durch ungefähr 14 Tage. Von da an bis zum 22. Mai 1884 kam keine syphilitische Erscheinung dazu. Das Tier ist vollkommen gesund.

Außer diesen beiden Autoren hatte noch Neumann (21) an einem Affen sekundäre Erscheinungen beobachtet, und Zabolotny (22), der einem Pavian und von diesem 3 Generationen weiterimpfte, erzeugte bei sämtlichen Tieren außer primären sekundären Erscheinungen. Nicolle (23), Sperk (24) und Hamonic (24a) brachten durch Impfung mit syphilitischem Material bei Affen nur Primäraffekte hervor.

Nachdem P. Friedenthal (25) die Aufmerksamkeit auf die Schimpansen als Impftiere gelenkt hatte — positive Erfolge erzielte er nicht, da die Affen zu früh starben — konnten Metschnikoff und Roux (26) an einer größeren Anzahl von Schimpansen zeigen, daß bei dieser Tierart ziemlich regelmäßig neben Primäraffekten auch sekundäre Hauteffloreszenzen auftreten, was von Lassar (27) und Neisser (28) bald darauf bestätigt werden konnte. Versuche, an sogenannten niederen Affen dieselben Effekte zu erzeugen, mißlangen sowohl Metschnikoff und Roux wie Neisser (13), Finger und Lanpsteiner (29).

Erst mir (30) glückte es, in einer großen Reihe von Versuchen diese für die wahre Syphilisnatur der Erkrankung beweisenden und daher so wichtigen Sekundärerscheinungen bei verschiedenen sogenannten niederen Affen wieder zum Vorschein zu bringen, wie die weiteren Ausführungen zeigen werden.

Ehe ich auf die Einzelheiten meiner Impfversuche eingehe, will ich vorausschicken, daß ich in dieser Arbeit nur diejenigen Versuche als

gelungen ansehen und so bezeichnen will, welche ganz unzweideutige Primäraffekte zeigten, die entweder schon durch ihr Aussehen jeden Zweifel ausschlossen oder bei der Weiterimpfung auf andere Tiere wiederum Primäreffekte erzeugten, die ein eindeutiges Bild gaben. Außer solchen Primäraffekten sollen als Beweis der positiven Impfung Sekundärerscheinungen der Haut gelten, die sowohl nach der Art und Zeit ihres Auftretens als auch nach ihrem Aussehen, eventuell auch nach dem Resultat ihrer Weiterimpfung als typisch betrachtet werden müssen. Alle Hauterscheinungen die diesen Anforderungen nicht entsprechen, will ich selbst in solchen Fällen, in denen ich persönlich geneigt war, eine positive Impfung anzunehmen, z. B. wenn nach einer bestimmten Inkubation nur unbedeutende, nicht ganz sichere abortive Formen auftraten, bei der Aufzählung als negativ bezeichnen. Infolge dieser strengeren Registrierungsart werden einige der in meiner ersten Mitteilung über Affenimpfungen als positiv bezeichneten Versuche als negativ geführt. Ich glaube, daß bei Anlegung eines derartig strengen Maßstabes die Objektivität der von mir zusammengestellten Resultate gewinnen wird.

Als Impfstoff sowohl bei kutanen wie subkutanen Impfungen diente gleichmäßig eine Emulsion des Materials meistens mit physiologischer Kochsalzlösung und in einem Teil der Fälle auch mit Glycerinwasser. Eine Differenz in der Wirksamkeit der beiden Emulsionsmedien habe ich nicht bemerkt. Daß Glycerin als Verdünnungsmittel geeignet sein mußte, hatte ich aus der bei der Vaccine üblichen Konservierungsmethode geschlossen, außerdem war das Geeignetsein des Glycerins zum Verdünnen des Syphilismaterials schon von Metschnikoff und Roux (31), festgestellt worden. Was das Verhältnis der Verdünnung anbetrifft, so habe ich möglichst bei allen Fällen einheitliche Zahlen verwendet und zwar bei Papelemulsion 1 : 3 und bei inneren Organen 1 : 5. Die früher übliche Methode der Einbringung ganzer Stücke luetischen Materials in die Hautwunden habe ich nicht befolgt.

Als Material kamen in Betracht Stoffe verschiedener Provenienz, wie beiliegende Liste zeigen wird, wobei zugleich die Wirksamkeit in Zahlen angegeben wird.

Material	Erfolg +	Erfolg —	Zusammen
Mensch, Primäraffekt	10	1	11
Mensch, innere Organe	8	5	13
Affe, Primäraffekt	10	1	11
Affe, innere Organe	7	11	18
Affe, sekundäre Papeln	1	—	1
Kaninchen, innere Organe	5	12	17
Meerschweinchen, innere Organe	—	2	2
Kalb, innere Organe	—	1	1

In der Regel wurde das Material sobald wie möglich nach Entnahme vom Ursprungsort zur Verimpfung gebracht, so daß im allgemeinen etwa $^1/_2$—1 Stunde bis zur Impfung verstrich. Bei der Verwendung der Organe Neugeborener und toter Föten verging manchmal eine längere Zeit bis zu 16 Stunden nach dem Tode bezw. der Geburt. Bei Verwendung sehr großer Mengen bei subkutaner Impfung sah ich auch nach so langer Zeit Erfolge. Das Alter der menschlichen Primäraffekte, die zu kutanen Impfungen benutzt wurden, überstieg nicht 8 Stunden, sie zeigten sich aber auch nach einer solchen Dauer noch in einigen Fällen sehr virulent. Das Material war in einem luftdicht geschlossenen Gläschen auf feuchtem Filtrierpapier

liegend, bei sommerlicher Zimmertemperatur im Dunkeln aufgehoben worden. Dagegen sah ich keinen Erfolg in den Fällen, in denen Papelemulsion 1 Stunde mit normalem oder syphilitischem Blut bei Zimmertemperatur im Dunkeln, bei 37° im Brutschrank und 1 Stunde im Brutschrank getrocknet und dann wieder befeuchtet zur Anwendung kam. Doch sind diese negativ verlaufenen Versuche nur in geringer Zahl gemacht, so daß bestimmte Schlußfolgerungen aus denselben mir nicht berechtigt erscheinen. Zu einem Vergleich der Wirksamkeit der verschiedenen Organe als Impfstoffe glaube ich nicht genügend zahlenmäßig verwendbare Versuche als Unterlage zu besitzen. Im allgemeinen verwendete ich eine Mischung von Leber, Milz und Niere und vielfach auch Knochenmark.

Bei vergleichenden kutanen Impfungen mit verschiedenen Organen an verschiedenen korrespondierenden Regionen desselben Tieres glaubte ich bemerkt zu haben, daß Leber wirksamer war als Niere und diese wieder wirksamer als Lymphdrüse. Doch sind meine diesbezüglichen Versuche nicht zahlreich genug, als daß sie, besonders wenn man die vielfachen Zufälligkeiten, die bei solchen Versuchen mitspielen, in Rechnung zieht, als beweisend gelten könnten. Im allgemeinen habe ich den Eindruck als wenn sämtliche inneren Organe als Impfmaterial dienen können. Was die Dauer der Erkrankung derjenigen Tiere anbetrifft, denen ich die Organe zur Verimpfung entnahm, so schwankte dieselbe zwischen 8 Tagen und 8 Monaten, ohne daß ich eine nachweisbare Differenz in der Virulenz nachweisen konnte. Jedoch glaube ich bemerkt zu haben, daß ältere Primäraffekte verimpft eine längere Inkubation bedingten, bis die in ihrer Virulenz übrigens gleiche Wirkung eintrat.

Die kutane Impfung wurde in folgender Weise vorgenommen. Die Haut wurde mit einer spitzen Cowperschen Schere ziemlich tief in einem Winkel von 45° eingeschnitten. Ich achtete darauf, daß eine deutliche Blutung entstand, welche ich zunächst durch kurzdauernde Kompression zum Stehen brachte. Dann schmierte ich die Emulsion mit einem kleinen Spatel in die Wunde und verrieb sie dort einige Zeit. Nach dieser Operation legte sich der Hautlappen von selbst über die Wunde. Selten legte ich nur eine Wunde an, sondern gewöhnlich eine ganze Reihe, an den Augenbrauen durchschnittlich nie weniger als 3. Handelte es sich um einen stark verdünnten oder zweifelhaften Stoff, so vermehrte ich die Zahl der Schnitte auf eine sehr große Zahl, manchmal auf über hundert und bedeckte damit außer der Kopfhaut auch Gesicht, Hals, Ohr, Bauch und Brust sowie Genitalgegend. Ich ging dabei von den Erfahrungen aus, welche Béclère, Chambon und Ménard (32) bei Verimpfung und Prüfung des Virulenzgrades von Kälberlymphe resp. des Immunitätsgrades vorbehandelter Tiere gemacht hatten. Aehnliche Erfahrungen hatten auch Vanselow und Freyer (34) bei Prüfung der Virulenz von Blut und Organteilen von geimpften Pockenkälbern gemacht. Es hatte sich nämlich herausgestellt, daß bei einer geringeren Anzahl von Impfschnitten ein schwächerer Impfstoff überhaupt keine Haftung hervorbrachte, während bei einer sehr großen Zahl von Impfstellen häufig noch einige einen positiven Ausfall des Versuches ergaben.

In einigen Fällen, in denen von einer großen Anzahl angesetzter Impfstellen nur wenige sehr schwache Reaktion zeigten und zu abortieren drohten, gelang es durch Anwendung einer Reizung durch teilweise Exzision oder Quetschung u. s. w. eine gut ausgebildete Impfpapel zu

erzeugen. Solche schwach ankommende Papeln findet man häufig auf der Haut des Rumpfes, der Brust und des Bauches. Ich konnte das Vorhandensein einer wenn auch schwachen Haftung in einigen Fällen nachweisen, wenn ich die Impfstellen, die nach einer kurzen, im Anschluß an eine primäre Wundreaktion auftretende Entzündung der Haut zu abortieren drohten, schon 5 Tage nach der Impfung herausschnitt und bei einem anderen Tiere auf eine günstigere Stelle verpflanzte, wo sie sich in typischer Weise entwickelten. Die Tarnowkyschen, sogenannten Reizpapeln, konnte ich bei einer größeren Anzahl von Versuchen nur einmal bestätigen. Bei einem Affen war 3 Wochen nach der Impfung an den Augenbrauen an einer Schnittwunde an der Ohrmuschel ein deutlicher syphilitischer Affekt entstanden, der in der Entwickelung dem Primäraffekt vorauseilte. Was den Ort der Impfung anbetrifft, so fand ich wie sämtliche andere Autoren, daß die Haut der Augenbrauen, der Lider und der Geschlechtsorgane die geeignetsten zur Impfung sind, während an anderen Körperstellen die Infektion seltener gelingt.

Die subkutane Impfung geschah mit einer 5—10 ccm fassenden Pravazschen Spitze mit einer möglichst starken Nadel, um die in der Emulsion befindlichen gröberen Partikelchen mit durchzulassen. Als Ort des Einstiches wählte ich gewöhnlich die äußere Haut des Oberschenkels. Abscesse an dieser Stelle fand ich 2mal; einen deutlichen Primäraffekt an derselben sah ich einmal. Die übrigen Operationen verliefen ohne lokale Reaktion.

Ein Eingehen auf die Wartung und Haltung der Affen scheint mir nicht unwichtig zu sein. Durch frühzeitiges Wegsterben der Tiere, worüber fast alle Experimentatoren klagen, habe ich keine erheblichen Verluste gehabt. Von 80 Affen sind mir im Laufe von 21 Monaten nur 5 vor oder kurz nach der Impfung eingegangen. Die Todesursachen waren nicht immer festzustellen; einige litten an Tuberkulose, andere an Darmwürmern mit Darmblutungen. Aber auch diese Todesfälle kamen in den letzten Monaten, seitdem ich nur mit Pavianen arbeite, ganz in Wegfall. Hauptgrund der günstigen Haltung der Tiere scheint mir die sorgfältige ausgewählte Futterzusammenstellung zu sein. Ich gebe nicht nur den Chimpansen wie Neisser (34) Reis, Mais, Brot und vor allen Dingen täglich frische Früchte, sondern auch die Makaken und Paviane werden genau in derselben Weise mit Nahrung versehen. Ebenso scheint mir die in kälteren Monaten, besonders für die Nächte, regulierte Heizung der Ställe sehr wichtig, nicht allein um Erkältungen zu vermeiden, sondern ich schreibe auch, wie ich schon früher bemerkte (5), das Entstehen von reichlichen Hautsekundäreffloreszenzen sowohl nach kutaner wie subkutaner Impfung zum Teil diesem Umstande zu. Den Einfluß der Wärme auf das Hervortreten syphilitischer Hauterscheinungen bestätigte kürzlich auch Tschlenow (35), der bei Haltung der Versuchsaffen bei 41° eine Abkürzung der Inkubation beobachtete.

Die verschiedenen Species der Affen zeigen ganz erhebliche Unterschiede in der Empfänglichkeit gegen syphilitische Infektion, besonders in der Art wie das Krankheitsbild in Erscheinung tritt. Meine Erfahrungen erstrecken sich über Makaken (*M. rhesus*, *sinicus* und *nemestrinus*), Meerkatzen resp. Mangaben (*Cercocebus fuliginosus*), Paviane (*Cynocephalus babuin*, *hamadryus* und *sphinx*) sowie Schimpansen (*Anthropopithecus troglodytes*) und Kapuzineräffchen (*Cebus capuzinus*). Am geeignetsten erschienen mir in jeder Beziehung, abgesehen von den

Schimpansen, die Paviane und zwar alle drei angegebenen Species in gleichem Maße.

Nicht nur die primären Impfeffekte traten bei ihnen deutlicher hervor, sondern auch Sekundärerscheinungen waren bei ihnen schon nach Hautimpfung in einem Prozentsatz zu erreichen (6 : 16), der dem von Metschnikoff bei Schimpansen erreichten (8 : 22) gleich ist. Nächst den Pavianen zeigten sich auch die Mangaben empfindlich, aber Sekundärerscheinungen sah ich unter 8 kutan geimpften nur 2mal. Bei Makaken konnte ich Sekundärerscheinungen in deutlicher Ausbildung meist nur nach Injektion großer Mengen Infektionsmaterials erzielen.

Aus dieser Aufzählung geht hervor, daß die strenge Scheidung der Affen in zwei Gruppen nach ihrem Verhalten gegen die syphilitische Infektion, wie Neisser und Finger u. A. es versuchen, nicht berechtigt ist, wenn sie sagen die „höheren" Affen unterscheiden sich von den „niederen" durch das Auftreten von Sekundärerscheinungen. Wenn man die Ergebnisse der Impfversuche genauer untersucht, findet man, daß die Gibbons (Hylobatiden) von Neisser als sehr geeignet zur Erzielung von Sekundärerscheinungen bezeichnet werden, während die Orang-Utang, die doch zu den Anthropoiden gehören, nur äußerst selten sekundäre Eruptionen bekamen; von den anthropoiden Affen eigneten sich nur die Schimpansen zur Erzeugung des vollen Krankheitsbildes. Um irrtümliche Generalisierungen in Zukunft zu verhüten, will ich kurz die Einteilung der Affenarten nach den neueren Ansichten der Zoologen mit Hinzufügung eines Hauptmerkmales skizzieren.

A. Neuweltsaffen (Platyrrhinen). B. Altweltsaffen (Katarrhinen)

I. Hundsaffen (Cynomorphe (Gesäßschwielen, schmales Brustbein)	II. Hylobatiden (Gesäßschwielen, breites Brustbein)	III. Anthropoide (keine Gesäßschwielen)
Makaken	Gibbons	Schimpansen
Paviane		Gorillas
Meerkatzen u. s. w.		Orangs

Wir sehen also aus dieser Skizze, daß Sekundärerscheinungen bei allen drei Gruppen bisher beobachtet wurden, bei Schimpansen, Gibbons, Pavianen und Makaken, während andererseits bei Affen, die zu Anthropoiden gehören, wie bei den Orangs, trotz vielfacher Benutzung als Impftiere bisher nur ausnahmsweise sekundäre Hauteffloreszenzen gesehen wurden. Es empfiehlt sich daher, um falscher Schematisierung aus dem Wege zu gehen, die einer vorurteilslosen Forschung nur hinderlich sind, in Zukunft die Begriffe „höhere" und „niedere" Affen ganz fallen zu lassen und dafür bei Berichterstattung über die Impfresultate bei Affen nur die Gattungen event. die Arten zu nennen.

Den Gang der Erkrankung bei geimpften Affen vom Tage der Infektion an durch Temperaturmessung graphisch zur Anschauung zu bringen, habe ich bei einer größeren Reihe von Tieren versucht. Ich habe aber schließlich davon Abstand genommen, nachdem ich gefunden hatte, daß nicht geimpfte Affen derselben Art genau dieselben Schwankungen zwischen 37,3° und 39,2° zeigten, wie ich sie bei kranken Tieren fand. Eine einigermaßen konstante Kurve wie bei Menschen scheinen diese Tiere nicht zu besitzen. Ganz besonders hatte ich mein Augenmerk auf ein plötzliches, kurz vor dem Ausbruch des Exanthems bei einzelnen menschlichen Fällen und von Klebs (s. o.) bei einem geimpften Affen beobachtetes Aufsteigen der Körperwärme gerichtet. Ich

war bisher aber nicht so glücklich, dieses Phänomen bestätigen zu können. Es scheint mir nicht regelmäßig dem Ausbruch der Sekundärerscheinungen vorauszugehen, sondern nur bei ganz besonders schweren Fällen beobachtet zu werden. Den Verlauf der Krankheit an der Hand von Leukocytenzählungen kurvenmäßig aufs Papier zu bringen, schien zunächst zu gelingen. Ich verweise auf die in der Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2 abgebildeten 7 Kurven, die nach subkutaner Impfung ein plötzliches Aufsteigen der Leukocytenzahl am 14. Tage und dann ebenso plötzliches Abfallen vermerken. Die Fortsetzung dieser mühseligen Berechnungen in einer sehr großen Anzahl von Fällen bei einer Reihe von nicht geimpften Tieren ergab mir Resultate, die geeignet sind, die Auffassung Kjer-Petersens (36), daß bei einer großen Anzahl Menschen normalerweise größere Schwankungen der Leukocytenzahl beobachtet werden können, sowie daß kein bestimmtes Verhältnis zwischen der Extensität einer chronischen Erkrankung wie der Lungentuberkulose und der Leukocytenzahl besteht, auch für die Affen, sowohl die gesunden wie auch die syphiliskranken, in sehr vielen Fällen gelten zu lassen.

Somit waren also zwei Methoden, den Verlauf der Krankheit mit zahlenmäßigen Nachweisen zu verfolgen, nicht anwendbar, und es blieb mir die Beobachtung weniger scharf fixierbarer Erscheinungen. Daß besonders nach subkutaner Infektion in manchen Fällen auffällige, monatelang bestehende Hautblässe auftrat, sprach gewiß für eine schwere innere Erkrankung, auch wenn keine besonders hervortretenden Hautsymptome sichtbar wurden. In einigen Fällen trat besonders die nach einigen Monaten hervortretende Wasseransammlung in der Haut, besonders des Gesichtes, der Augenlider, des Halses und unteren Bauch-, besonders der Geschlechtspartieen (Skrotum oder Schamlippen) hervor. Ich habe derartige Erscheinungen auch photopraphiert und verweise auf die in der Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2 reproduzierten Bilder. Solche Oedeme waren immer mit schwerer innerer Erkrankung verbunden. Auch der Herzbeutel, das Peritoneum und die Pleura zeigten in diesen Fällen Wasseransammlungen, die, wie ausdrücklich bemerkt werden soll, bei dem Fehlen einer anderen Krankheit, etwa der Tuberkulose, nur auf Syphilis zurückgeführt werden konnten. Auch bei Menschen sind Oedeme als Begleiterscheinungen schwerer Infektion mit Syphilis, besonders von Hochsinger (37), beschrieben worden.

Auf die Drüsenschwellungen möchte ich bei manchen Affenarten, besonders bei den Mangaben, aber auch bei den Makaken, nicht so unbedingt wie früher ein besonders großes Gewicht legen. Natürlich kann man bei genauer täglicher Beobachtung aus der auffälligen, erst einige Wochen nach der Infektion auftretenden Vergrößerung der Lymphdrüsen, die besonders in der Leistenbeuge und in der Axillargegend auffällt, gewisse Rückschlüsse auf den vermutlichen Zusammenhang mit der syphilitischen Erkrankung machen. Aber man muß bedenken, daß bei Affen solche zum Teil sehr auffälligen allgemeinen Drüsenschwellungen, wie ich fand, auch bei ganzen Reihen anscheinend absolut gesunder Tieren gesehen werden können. Demnach dürfen dieselben nicht in demselben Maße wie bei Menschen zur Charakterisierung des Krankheitsbildes verwertet werden.

Darmblutungen sind von einigen Beobachtern bei Affensyphilis beschrieben worden und auch ich kann bestätigen, daß ich sie bei einigen Tieren auf dem Höhepunkt der Erkrankung, d. h. mit dem Auftreten der Sekundärerscheinungen zusammenfallend gesehen habe, ohne daß die

spätere Sektion das Vorhandensein von Darmwürmern oder anderer nachweisbarer Darmerkrankungen gezeigt hätte. Ich halte es daher für möglich, daß diese Erscheinungen mit der Syphilis in Zusammenhang stehen könnten.

Ehe ich zur speziellen Beschreibung der spezifischen Veränderungen der Impftiere übergehe, möchte ich noch die Lebensdauer der geimpften Affen besprechen. Die größte Zahl wurde behufs Untersuchung der inneren Organe zu ganz verschiedenen Zeitpunkten nach der Impfung getötet. Die Untersuchung der übrigen jetzt nicht mehr lebenden, die spontan eingingen, ergab folgende Zahlen, wobei wegen der leichteren Uebersichtlichkeit eine Abrundung auf Wochen resp. halbe Monate vorgenommen wurde.

Lebensdauer nach der Impfung	Macacus rhesus	Macacus sinicus	Macacus nemestrinus	Cercocebus fuliginosus	Cynocephalus hamadryas	Cebus capuzinus	Anthropopithecus troglodytes
2 Wochen	2	—	—	—	—	—	—
3 „	2	—	1	—	1	—	—
1 Monat	3	—	—	1	1	—	—
1½ Monate	—	—	—	1	1	—	—
2 „	2	—	—	1	2	—	—
2½ „	—	—	—	1	1	—	—
3 „	3	—	—	—	2	—	—
4 „	2	—	—	—	—	—	—
4½ „	1	—	—	—	—	—	—
5 „	5	—	—	—	—	—	1 (lebt noch) 1. 1. 07
6 „	5	—	—	—	—	1	—
6½ „	2	1	—	—	—	—	—
7 „	—	—	—	—	1 (lebt noch) 1. 1. 07	—	—
9 „	2	—	—	—	—	—	—

Aus dieser Liste, in die ich auch besonders lange nach der Impfung aushaltende, bis zum 1. Jan. 1907 noch nicht gestorbene Affen aufgenommen habe, geht hervor, daß es hier in Deutschland bei richtiger Pflege gelingt, mit Syphilis geimpfte Tiere, selbst solche Arten, die sonst auch ohne geimpft zu sein, schwer längere Zeit am Leben erhalten werden, können wie Schimpansen und Makaken, eine ganze Reihe von Monaten, bisher bis zu einer Dauer von 9 Monaten, vor vorzeitigem Tode zu schützen. Wie wichtig die möglichst lange Lebensdauer für die Impfsyphilis der Affen ist, wird die später erfolgende Beschreibung der Erkrankung innerer Organe ergeben, ganz abgesehen davon, daß Bedingung einer zuverlässigen Beobachtung von Immunisierungs- und Heilungsbestrebungen eine möglichst lange Lebensdauer der Impftiere ist.

Indem ich jetzt zu den wichtigen Hauterscheinungen der Affensyphilis übergehe, kann ich mich bei Besprechung der Primärerscheinungen kurz fassen, da sowohl von mir (30) selbst als auch von den anderen Experimentatoren über diesen Punkt genügend genaue Beschreibungen vorliegen. Wenn ich trotzdem einige Primäraffekte auf farbigen Bildern reproduziere, so geschah das besonders aus dem Grunde, weil sämtliche bisher vorliegenden Abbildungen eine so künstlerisch vollkommene Ausarbeitung wie die des Malers Schmitson nicht zeigen. Wie hier auch gleich für die übrigen Bilder mit angegeben sein mag, sind sämtliche Malereien auf Grund vorher mit einem Zeissschen Tessarapparat aufgenommener Momentphotographieen entstanden, wodurch ihre Naturwahrheit in hohem Maße garantiert wird. Um zu zeigen wie wenig aber

für Darstellung von pathologischen Veränderungen der Haut selbst ein gut gelungenes Photogramm genügt, habe ich eines dieser Photogramme mit reproduzieren lassen (Textfigur). Dasselbe entspricht der Fig. 2, Taf. I.

Die Inkubation nach kutaner Impfung bis zum Erscheinen des Primäraffektes betrug bei einer Reihe von Tieren:

Tage	8	14	15	17	19	21	22	28	30	35	36	= 552
Mal	1	1	1	1	1	4	2	3	3	3	2	= 22

also im Mittel 25 Tage, eine Zahl, die mit den bei Menschenimpfungen sowie Affenimpfungen von Anderen festgestellten ziemlich übereinstimmt. Kleine Differenzen lassen sich nicht ausschließen bei Aufstellung dieser Zahlen, weil die Ansetzung des ersten Tages für den Primäraffekt selbstverständlich dem subjektiven Ermessen überlassen bleibt. Ich habe möglichst das erste Entstehen der Hautefflorenszenz als Termin aufgefaßt, muß aber gestehen, daß aus rein äußeren Gründen die Durchführung sehr schwer war. Auf einen Punkt möchte ich noch die Aufmerksamkeit richten, von dem ich nicht genau weiß, ob ich richtig beobachtet habe. Wenn ich, wie es bei einigen Affen geschah, täglich die Impfstelle betrachtete, hatte ich die Empfindung, als wenn die Primäraffekte plötzlich, wenigstens innerhalb eines Zeitraums von 24 Stunden, als Röte und Schwellung aufgeschossen waren, um von diesem Momente an erst langsam sich weiter zu entwickeln. Aehnliche Beobachtungen machte Nourney (Lehre von der Impfung. Straßburg 1881) bei Pockenimpfungen. Besondere Unterschiede der Inkubationsdauer nach Tierarten geordnet fand ich nicht und habe daher in der Skizze die Namen der Tierarten nicht mit angegeben. Nur bei dem Schimpansen fiel mir eine im Gegensatz zu Metschnikoffs Angaben (22—27 Tage) auffällig kurze Inkubation von 14 Tagen auf. Doch steht dieselbe auf der anderen Seite wieder in guter Uebereinstimmung mit den von Lassar (25) für seine beiden Schimpansenimpfungen angegebenen Zahlen (14 Tage).



Pavian mit Sekundärerscheinungen.

(Forts. folgt.)

Beobachtungen über Culiciden.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von **B. Galli-Valerio** und **J. Rochaz de Jongh.**

Mit 1 Figur.

Während unserer Beobachtungen über Culiciden, die sich auf die Zeit vom 1. Nov. 1905 bis Nov. 1906 erstreckten, konnten wir mehrere, schon in früheren Jahren gemachte und in dieser und anderen Zeitschriften [1]) veröffentlichte Beobachtungen ergänzen und bestätigen. Wir halten es von Nutzen, hier ein Resümee davon zu geben.

a) Untersuchungen über das Ueberwintern der Culiciden.

Die Beobachtungen dieses Jahres bestätigten uns immer mehr das Ueberwintern der Larven von *Culex* (sehr zahlreich im Winter 1905 und 1906), von *A. bifurcatus* und von *A. bifurcatus* var. *nigripes*, sowie das Ueberwintern der Eier in der Erde und auf Blättern in trocken liegenden Pfützen, und ließen uns einige neue Tatsachen feststellen. Zum ersten Male konnten wir im Winter Larven von *A. maculipennis* finden. Am 29. Dez. 1905, mit einer Lufttemperatur von —1° C und Wassertemperatur von +0,5° C, fanden wir diese Larven in der Nähe von Sondrio (Veltlin) in einer Pfütze mit üppiger Vegetation von *Nasturtium officinale* (Brunnenkresse). Die gleiche Pfütze enthielt viele Larven von *A. bifurcatus* und *A. bifurcatus* var. *nigripes*. Alle diese Larven hielten sich zwischen den Blättern der Brunnenkresse versteckt, wo das Wasser nur mit einer dünnen, unterbrochenen Eisschicht bedeckt war. Eine andere Beobachtung konnten wir auch machen: Das Vorhandensein und die Entstehung von Puppen über den ganzen Winter 1905—1906. Es sei erwähnt, daß wir eine Puppe von *A. maculipennis* in Orbe (Kanton Waadt) den 2. Nov. 1905 fanden. In einem im Erdboden eingegrabenen Fasse im freien Felde in der Orbeebene (Waadt) fanden wir zahlreiche Puppen von *C. annulatus* den 2. Nov. 1905 (Lufttemperatur +4° C, Wassertemperatur +4° C), den 20. Nov. (Lufttemperatur +4° C, Wassertemperatur +4° C), den 9. Dez. (Lufttemperatur +4° C, Wassertemperatur +4° C), 20 Puppen den 25. Dez. (Lufttemperatur +2° C, Wassertemperatur +0,5° C), 3 Puppen den 7. Jan. (Lufttemperatur +7° C, Wassertemperatur +5° C). Es muß bemerkt werden, daß jedesmal die eingefangenen Larven aufgehoben wurden, um ins Laboratorium gebracht zu werden; somit haben sich während des ganzen Winters Puppen gebildet bei einer Temperatur im Mittel von: Nov. +4,6° C, Dez. +1,3° C, Jan. +1,39° C.

Wir brachten eine Anzahl der auf diese Weise gesammelten Puppen im Raume zwischen Fenster und Doppelfenster an der Nordseite des Hauses unter. Puppen, den 11. Dez. in diesen Raum gestellt, entwickelten sich vom 23. Dez. bis 6. Jan. Andere, am 26. Dez. in einen gleichen Raum gestellt, entwickelten sich vom 2.—14. Jan. Die Temperatur während dieses Zeitraumes betrug im Mittel 0,75° C (Dez.) und 1,3° C (Jan.).

---

1) Siehe das Verzeichnis dieser Arbeiten in unserem: Manuel pour la lutte contre les moustiques. Lausanne 1906.

In Betreff des Ueberwinterns der Imagines fanden wir in einem Weinkeller Weibchen von *C. pipiens*, *C. vexans*, *C. annulatus* und *A. maculipennis*, welche da überwinterten. Diese Weibchen verhielten sich meistens ganz ruhig und stachen nicht; ein Weibchen aber von *C. vexans*, am 7. März in diesem Keller gefangen und in ein warmes Zimmer gebracht, stach sofort und ging nach 8 Tagen ein, ohne wieder stechen zu wollen.

Wir stellten Weibchen und Männchen von *C. annulatus*, die sich aus den im Winter eingesammelten Puppen entwickelt hatten, in einem Glasbehälter zwischen Fenster und Doppelfenster, wo die Temperatur zwischen 0,75° C und 1,3° C betrug. Einige Weibchen und auch einige Männchen konnten 20—23 Tage widerstehen, ohne Nahrung zu nehmen, also viel länger als Imagines, welche nüchtern während der Sommersaison gehalten wurden: Für diese Zeit beobachteten wir eine Widerstandsfähigkeit von 17 Tagen [1]).

Wir glauben immer noch, daß (jedenfalls im Kanton Waadt) die Mehrzahl der im ersten Frühling erscheinenden Mücken ihren Ursprung nicht im frühzeitigen Eierlegen der überwinterten Weibchen hat, wohl aber in den überwinterten Larven und Eiern.

b) Beobachtungen über Larvennester der Culiciden.

In solch trockenem Jahre, wie es das verflossene war, schien es uns interessant, zu beobachten, welche Wasseransammlungen die Mücken zum Eierlegen aufsuchen würden. So fanden wir zahlreiche *Culex*-Larven in Geschirrscherben, die ein bischen Wasser enthielten, in Flaschen, welche auf dem Lande liegen gelassen worden waren, in alten Einmachebüchsen mit einem Tröpfchen Wasser. Zu bemerken ist, daß die Seltenheit des Wassers *A. bifurcatus* und *A. maculipennis* noch häufiger als gewöhnlich dazu bewog, ihre Eier in sehr verunreinigtes Wasser zu legen. So sammelten wir eine ganze Menge Larven dieser beiden Arten in Fässern, die durch organische Stoffe sehr beschmutztes Wasser enthielten und ein Jauchegraben versorgte uns über den ganzen Sommer mit Hunderten von Larven von *A. maculipennis*. Diese Tatsache bestätigt von neuem unsere Behauptung, daß *A. bifurcatus* und *A. maculipennis* reines Wasser zum Eierlegen nicht bedürfen. Auch stark verunreinigtes Wasser kann ein wichtiges Nest dieser Arten werden und sollte dies nie in der Prophylaxe der Malaria vergessen werden.

In der Umgegend von Sondrio (Veltlin), wo wir das Vorkommen einer so großen Menge Larven von *A. maculipennis* in einem Jauchegraben beobachteten, befanden sich auch Pfützen, deren Wasser durch *Lemna palustris* ganz bedeckt war. Trotzdem die Mücken dieses Jahr so wenig Auswahl hatten für das Eierlegen, fand man keine Larven in diesen Pfützen: Die wichtige Rolle von *Lemna palustris* als entwickelungshemmender Pflanze für die Larven der Culiciden ist also bestätigt. Im Gegenteil konnten wir beobachten, daß *Culex* und speziell *Anopheles* die Pflanzen von *Nasturtium officinale* und *Ranunculus aquaticus* zum Eierlegen bevorzugen.

Schon früher [2]) haben wir darauf hingewiesen, daß Alpenseen mit sehr reinem Wasser und fast gänzlich der Pflanzen entbehrend, doch sehr zahlreiche Larven und Puppen von *C. nemorosus* beherbergen können.

---

1) Atti della soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. VII. p. 1.
2) Atti della soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. VII. p. 1.

Am 21. Juli 1906 war es uns im kleinen See von Rogneda (2390 m u. d. M. im Veltlin) möglich, einen Einblick in das Leben und Treiben der Culiciden der Alpenseen zu tun. Dieser See ist ganz umgeben von Geröllhalden, die aus großen Schieferblöcken bestehen; die Ufer sind senkrecht und jeder Vegetation bar. Im See selbst ist keine Pflanze zu finden; der Grund besteht aus Schieferblöcken und Sand ohne etwas Pflanzliches. Trotzdem war dieser See äußerst reich an Larven und Puppen von *Culex*. Wir konnten uns nicht erklären, von was die Larven in solch reinem Wasser leben konnten; bei näherer Beobachtung sahen wir sie aber häufig den Schieferblöcken sich nähern, den Kopf gegen diese haltend und rasche Bewegungen mit dem Vorderteil des Körpers machen. Die Schieferblöcke waren mit einer kaum bemerkbaren, braunen Schicht überzogen. Durch Abkratzen der Blöcke ließ sich von dieser Schicht etwas lösen und mikroskopisch konnte man erkennen, daß die braune Schicht aus Algen bestand. Die Untersuchung des Darminhaltes der Larven zeigte das Vorhandensein einer Menge Algen wie auch einiger beweglicher, sehr langer Bacillen. Diese Larven hatten eine gelbliche Farbe, der Kopf, das letzte Glied und die Atmungsröhre waren schwarz. Die Puppen waren fast schwarz auf der Oberseite, gelblich auf der Bauchseite; sie schwammen mit größter Geschwindigkeit umher. Sie entwickelten ♂ und ♀ von *C. nemorosus*, bilden aber fast eine Varietät, denn Fühler, Rüssel und Taster sind schwarz, der Thorax schwarz mit feinen, gelblichen Haaren, die Flügel rauchfarben, die Beine schwarz, das Abdomen weiß und schwarz geringelt. Diese Tendenz, eine dunklere Färbung anzunehmen als gewöhnlich, bemerkten wir schon letztes Jahr an den Imagines von *C. nemorosus* der Alpenseen.

Wahrscheinlich überwintern diese *Culex* in Larvenform im tiefen und sicherlich nicht bis auf den Grund gefrierenden See. Der See liegt weit ab von Wohnungen und Pflanzenwelt. Es sind wahrscheinlich diese *Culex* der Alpenseen, welche mit Hämosporidien gewisse Vögel infizieren, wie *Accentor collaris*, der Höhenlagen nie verläßt[1]).

c) Beobachtungen über die Zerstreuung der Imagines der Culiciden durch den Wind.

Wir schenkten dieses Jahr unsere Aufmerksamkeit im Kanton Waadt wie im Veltlin der Rolle, welche die Winde bei der Zerstreuung der Culiciden spielen mögen. Wir haben uns noch einmal überzeugen können, daß in der Mehrzahl der Fälle der Wind die Mücken in größere Entfernungen zu tragen nicht vermag. Wir beobachteten das in Zonen, wo an windstillen Tagen viele *C. vexans*, *C. pipiens* und *C. nemorosus* umherflogen, an windreichen Tagen keine Imagines zu sehen waren trotz der hohen Temperatur. Wenn man aber die Blätter der am Ufer befindlichen Schilf- und *Carex*-Pflanzen stark schüttelte, entflogen diesen viele Mücken, die sich also unter den Blättern gegen den Wind schützten. Der Transport in die Entfernung durch den Wind muß als ganz ungewöhnlicher Zerstreuungsweg betrachtet werden.

d) Beobachtungen über Parasiten der Imagines von *Culex*.

Wir bemerkten dieses Jahr wieder das Vorkommen eines *Acarus* (*Trombididae*), den wir schon 1903 erwähnten[2]). Wir fanden ihn in der

1) Galli-Valerio, B., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXI. 1902. p. 162.
2) Atti della soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. V. p. 1.

Zahl von 1—2 Exemplaren auf dem Thorax der Imagines von *C. vexans*, *C. nemorosus* und *C. ornatus* in demselben Walde (Montcherand bei Orbe, Waadt), wo wir ihn vor 3 Jahren schon einmal beobachtet hatten. Im Gegensatz zu Mankowsky[1]) bemerkten wir nicht, daß die *Acarus*-Träger durch ein krankhaftes Wesen auffielen; diese Imagines flogen und stachen wie die anderen. Wir sprechen diesen Parasiten keine schädigende Wirkung auf die Culiciden zu, und glauben nicht, daß sie zu deren Vertilgung verwertet werden könnten.

e) Beobachtungen über das wahrscheinliche Vorhandensein der Gattung *Aedes* im Kanton Waadt.

Diese Gattung, deren Art als *A. cinereus* Meig. für Europa beschrieben ist, ist sehr selten zu treffen. Seit langem wurde sie nicht mehr erwähnt, bis sie 1903 Eysell[2]) in Deutschland mit einer anderen Art, *A. leucopygos* Eysell, wieder fand. Er konnte feststellen, daß das ♀ dieser 2 Arten den Menschen sticht und einen sehr schmerzhaften Stich besitzt.

Den 3. April 1906 am Ufer des Genfersees bei Vidy (Lausanne) in einer kleinen Pfütze, die allein von einem größeren Sumpfe zurückblieb, fand zusammen mit zahlreichen Larven von *Sayomyia* Coq. einer von uns eine Larve, die einer *Culex*-Larve glich, von weißlicher Färbung und mit dunklen Längslinien, mit schwarzer, kegelförmiger, sehr kurzer Atmungsröhre, die fast in der gleichen Linie mit der Körperachse steht. Die hintere Extremität trug ein Büschel gut entwickelter Haare. Die Larve bewegte sich sehr langsam durch Lateralbewegungen des Körpers. Auf der Oberfläche verhielt sie sich in fast horizontaler Stellung wegen der Kürze des Atmungsrohres und der Kopf stand im Winkel mit dem Thorax. Diese Larve ging leider zu Grunde, bevor sie sich in die Puppe umwandelte. Wir dachten sofort an die Gattung *Aedes*, aber die genaue Beschreibung der Larve dieser Gattung fehlt. Herr Prof. Theobald, der die Güte hatte, die Larve zu untersuchen, blieb auch im Zweifel; er denkt aber doch, daß die Larve der Gattung *Aedes* angehöre. Wir fanden es nützlich, auf diese Larve aufmerksam zu machen, da sie vielleicht wieder gefunden und in ihrer Entwickelung beobachtet werden könnte, und man dann endgültig Aufklärung hätte, ob sie der Gattung *Aedes* angehört oder nicht.

f) Untersuchungen über einige Stoffe, die die Fähigkeit besitzen, die Stechmücken vom Körper fernzuhalten.

Obgleich dieser Punkt schon von mehreren Forschern erörtert worden ist[3]), machten wir eine Reihe von neuen Versuchen, um womöglich endlich diese wichtige Frage zu lösen. Bei diesen Experimenten bedienten wir uns des Muffes nach Rees, in welchen wir Imagines von *C. pipiens*, *C. nemorosus*, *C. vexans*, *A. bifurcatus* und *A. maculipennis* stellten. Der entblößte Arm wurde in diesen Muff eingeführt, nachdem man eine beliebige Stelle des Armes mit der zu experimentierenden Substanz eingerieben hatte. Einige Male wurde an so vorbereitete Arme der Mull des Muffes, auf welchem die Imagines fixiert waren, nur angedrückt. Der Arm wurde 10—15 Minuten in Stellung gelassen. In folgender Tabelle sind die erhaltenen Resultate zusammengefaßt:

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905.
2) Abhandl. u. Ber. XLVIII. d. Ver. f. Naturk. zu Kassel. 1903.
3) Siehe: Manuel pour la lutte contre les moustiques. Lausanne 1906.

No.	Gebrauchte Stoffe	Resultate
1	Formalin (40-proz.)	Stechen die Stelle nicht, welche mit dieser Substanz eingerieben ist
2	Saprol	Stechen in der nahen Umgebung der eingeriebenen Stelle
3	Ol. caryoph.	Stechen nicht, solange die Essenz nicht verdunstet ist; stechen auch nicht in der Umgebung
4	Ol. thereb.	do.
5	Ol. pini pumilionis	do.
6	Ol. rosmar.	do.
7	Ol. bergam.	do.
8	Ol. lavendul.	do.
9	Ol. cinnam.	do.
10	Ol. aurantiae flo.	do.
11	Ol. sabinae	do.
12	Ol. patschouli	do.
13	Ol. valerian.	do.
14	Ol. menth. pip.	do.
15	Ol. lupuli	do.
16	Ol. thymi alb.	do.
17	Ol. citri	do.
18	Ol. calam. arom.	do.
19	Ol. Cajeput. rect.	do.
20	Ol. origani	do.
21	Ol. anisi mosc.	do.
22	Ol. rutae gallic.	do.
23	Ol. eucalypti	do.
24	Ol. carvi	do.
25	Ol. lauri	Stechen die eingeriebene Stelle nach 5 Minuten, manchmal sogleich
26	Vas. camph. (10-proz.)	Stechen die eingeriebene Stelle nicht und auch nicht in der Umgebung
27	Pulv. pyreth. dalm.	Stechen am meisten die eingeriebene Stelle
28	Pulv. pyreth. caucas.	do.
29	Thymol in Alkohol (2-proz.)	Stechen die eingeriebene Stelle nicht
30	Tinct. moschi	do.
31	Bals. peruv.	do.

Der Ueberblick dieser Tabelle zeigt uns, daß in der Mehrzahl der Fälle die geprüften Stoffe den Stich verhindern, nicht nur auf dem eingeriebenen Teile, sondern auch in der Umgebung. Leider ist es nicht möglich, diese Substanzen, so wie sie in der Tabelle stehen, zu gebrauchen des Preises wegen und der reizenden Wirkung, die mehrere derselben auf Haut und Schleimhaut ausüben; auch wissen wir, daß der Versuch von Otto und Neumann[1]), die Essenzen mit Oel zu vermischen, sehr wenig befriedigende Resultate lieferte. Wir glauben, daß unter den geprüften Substanzen die einzige, die eine praktische Anwendung finden kann, die Salbe von Vas. camph. (10-proz.) ist. Sie verbreitet ziemlich lange Kampfergeruch, kann leicht auf den unbedeckten Teilen des Körpers aufgetragen werden, ist nicht sehr teuer (100 g = ca. 50 Pfg.) und reizt die Haut nicht. Obgleich wir den Schutz gegen den Stich der Culiciden durch mechanische Mittel bevorzugen, so glauben wir doch, daß diese Salbe in gegebenen Fällen gute Dienste leisten kann.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LI. 1905. p. 357.

g) Untersuchungen über schmerzstillende Substanzen bei Mückenstich.

Einige der zahlreichen Substanzen, die zu diesem Zwecke vorgeschlagen sind, sind von uns erprobt worden. Auch wir selbst erzielten die besten Resultate, indem wir sofort nach dem Stiche auf die gestochene Stelle einen Tropfen folgender Flüssigkeiten auftrugen:

Formalin (40-proz.) 15 g, Xylol 5 g, Essigsäure 0,50 g, Kanadabalsam 1 g (Joly).

Formalin (40-proz.),
Ammoniak,
Jodtinktur,
Guayacol (1-proz.),
Karbolwasser (3—5-proz.).

Das Formalin (40-proz.) des Handels scheint uns am empfehlenswertesten, außer für diejenigen, welche eine Idiosynkrasie für diesen Stoff bezeigen. Als Konservierungsflüssigkeit befindet sich Formalin im Gepäck aller derjenigen, welche warme Länder bereisen und die dem Stiche der Culiciden am meisten ausgesetzt sind.

h) Untersuchungen über einige Stoffe zur Vernichtung der Larven und Puppen der Culiciden.

Wir machten diese Versuche mit einer Reihe Substanzen, die wir bei unseren früheren Experimenten beiseite gelassen hatten. Wir hatten folgende Resultate:

1) Grünes Schieferöl (Huile verte de schiste).

Dieses Oel wird durch Destillation der Schiefer der Steinkohlenbecken von Mittelfrankreich gewonnen. Es wurde uns freundlichst von Herrn G. Barillet in Alfort (Seine) zur Verfügung gestellt. Gleich wie Petroleum oder Saprol breitet man das Schieferöl auf der Wasseroberfläche mit einem ins Oel getauchten Stück Stoff aus, das an der Oberfläche hin und her gezogen wird, oder auch mit dem Apparat, den wir zur Petrolierung der Sümpfe vorgeschlagen haben[1]). Das Schieferöl kann in gleichmäßiger Schicht auf dem Wasser ausgebreitet werden, zerfließt aber nicht so leicht als Petroleum oder Saprol, und muß meistens mit dem Stück Stoff verstrichen werden. In Tropfenform aufs Wasser gebracht, zerfließen diese Tropfen nur mit Mühe, um eine gleichmäßige Schicht zu bilden.

Wir machten mit diesem Oel Versuche in vitro und im Felde.

Experiment I. Behälter von 7,3 × 13 cm mit einer Wasserschicht von 3 cm. 9 Uhr morgens werden 4 Puppen und 4 Larven von *Culex* hineingebracht und das Wasser mit einer Schicht Oel bedeckt. 9 ¼ Uhr sind 4 Puppen tot. Um 9 Uhr 25 Min. befinden sich die 4 Larven am Boden des Behälters und bewegen sich kaum mehr. 1 Uhr nachmittags sind sie tot.

Experiment II. In einen gleichen Behälter wie oben werden um 10 Uhr morgens 3 Puppen und 6 Larven von *Culex* gebracht und Oel auf das Wasser gebreitet. Um 10 ¾ Uhr sind die 3 Puppen und 4 Larven tot. Um 11 Uhr ist eine andere Larve tot und um 12 Uhr die letzte.

Experiment III. In einen gleichen Behälter wie oben werden um 8 ½ Uhr morgens 10 Larven von *Culex* gebracht und Oel auf das Wasser

1) Therapeut. Monatsh. 1904. Sept.

gebreitet. 2 Larven sind um 9 Uhr 40 Min. tot, 6 gehen zwischen 10 und 12 Uhr ein, 2 halten sich auf dem Grund des Behälters, bewegen sich kaum und sind 7 Uhr abends tot. Diese 3 Behälter, seit dem 2. April offen an der Zimmerlufttemperatur gelassen, zeigten noch am 20. Mai Oelflecke auf ihrer Oberfläche.

Experiment IV. In einen Behälter werden 20 Larven und 20 Puppen von *Culex* um 11 Uhr morgens gebracht und das Wasser mit Oel bedeckt. Um 11$^1/_2$ Uhr sind 6 Puppen und 2 Larven tot. Abends 6 Uhr sind alle Puppen und 16 Larven tot. Am nächsten Morgen ist alles tot.

Experiment V. In einen gleichen Behälter werden 20 Larven und 20 Puppen von *Culex* gebracht um 11 Uhr morgens. Um 11$^1/_2$ Uhr sind 18 Puppen tot, um 12 Uhr die 2 letzten und um 11 Uhr abends alle Larven.

Experiment VI. In eine Pfütze von 1,35 × 0,50 m werden am 1. April 1906 um 10$^1/_4$ Uhr morgens (Lufttemperatur + 6° C) einige Hundert Larven von *Culex* gebracht und die Oberfläche des Wassers mit 10 ccm Schieferöl bedeckt. Eine ganz kleine Pfütze der Umgebung, welche von *Culex*-Larven wimmelte, wird auf die gleiche Weise behandelt um 10$^1/_2$ Uhr. Um 5 Uhr abends sind nur noch einige wenige Larven in beiden Pfützen am Leben. Am 3. April sind noch in der größeren Pfütze 10 Larven am Leben. Am 8. April findet man nur noch 5 lebende Larven in einer Ecke, in welche das Oel nicht gedrungen war.

Experiment VII. Am 14. April werden in die gleiche Pfütze, welche noch einige Spuren Oel aufweist, um 5 Uhr abends (Lufttemperatur + 14° C) zahlreiche Larven und Puppen von *Culex* gebracht und Oel auf das Wasser gebreitet. Um 5$^1/_4$ Uhr sind alle Puppen tot, die Larven hingegen sind alle am Leben. Am 22. April sind keine lebenden Larven mehr vorhanden. Die Pfütze zeigte noch Ende des Monats Mai Spuren von Oel an der Oberfläche und enthielt keine Larven.

Diese Experimente beweisen uns, daß grünes Schieferöl (huile verte de schiste) mit Nutzen neben Petroleum und Saprol verwertet werden kann zur Vernichtung der Larven und Puppen der Culiciden.

2) Calciumkarbid.

Experiment I. In eine 5-proz. Lösung werden 4 Larven von *Culex* gebracht. Augenblicklich tot.

Experiment II. In eine 5-proz. Lösung werden vom 12.—23. April 4 Larven und 5 Puppen gebracht. Alles tot.

Experiment III. In eine 2-proz. Lösung werden 4 *Culex*-Larven gebracht. Augenblicklich tot.

Experiment IV. In eine 2-proz. Lösung werden vom 12.—23. April 4 Larven und 4 Puppen von *Culex* gebracht. Alles tot.

Experiment V. In eine 1,5-proz. Lösung werden 4 Larven von *Culex* gebracht. Augenblicklich tot.

Experiment VI. In eine 1,5-proz. Lösung werden vom 12.—23. April 3 Larven und 4 Puppen von *Culex* gebracht. Alles tot.

Experiment VII. In eine 1-proz. Lösung werden 4 Larven von *Culex* gebracht. 3 Stunden später sind sie tot.

Experiment VIII. In eine 0,50-proz. Lösung werden 4 Larven von *Culex* gebracht. Sterben im Zeitraum von 2—6 Stunden.

Experiment IX. In eine 0,10-proz. Lösung werden vom 2.—21. April 9 Larven und 2 Puppen von *Culex* gebracht. 8 Larven sterben, eine verpuppt sich und entwickelt ein ♂ von *C. nemorosus*. Die 2 Puppen entwickeln ein ♂ und ein ♀ von *C. nemorosus*.

Experiment X. In eine 0,01-proz. Lösung werden vom 2. April bis 5. Mai 7 Larven und 1 Puppe von *Culex* gebracht. Die 7 Larven sterben, die Puppe gibt ein ♀ von *C. nemorosus.*

Experiment XI. In eine 0,005-proz. Lösung werden vom 2.—29. April 10 Larven und 1 Puppe von *Culex* gebracht. Die 10 Larven sterben, die Puppe gibt ein ♂ von *C. nemorosus.*

Experiment XII. In eine 0,001-proz. Lösung werden vom 2.—23. April 6 Larven und 1 Puppe gebracht. Alles tot.

In den Behältern der Experimente II, IV und VI hatte sich an der Oberfläche ein Häutchen gebildet, welches dem Atmen der Larven und Puppen hinderlich war. Diese Versuche lassen uns sehen, daß Calciumkarbid, mit Wasser vermischt, Leben und Entwickelung der Mücken hindert, und zwar auch mit schwachen Lösungen: 0,001-proz. Die starken Lösungen besitzen eine energische Wirkung auch auf die Puppen. Diese Lösungen bleiben jedenfalls 1 Monat lang aktiv.

3) Rabotsche Lösung.

Diese Lösung, welche hauptsächlich zur Desinfektion der an organischen Stoffen reichhaltigen Wässer dient, ist auf folgende Weise zubereitet worden:

Ferrum sulfuricum	0,175	g
Ungelöschter Kalk	0,25	„
Wasser	150	„

Der Lösung werden vom 10.—21. April 8 Larven und 2 Puppen von *Culex* beigefügt. Die Larven sind tot, die Puppen entwickelten ein ♂ und ein ♀ von *C. nemorosus.*

Dieser Versuch zeigt, daß die Lösung von Rabot auf die Larven einzuwirken vermag, auf die Puppen aber keine Wirkung zu haben scheint, da diese sich entwickeln und Imagines geben können.

4) Ferrum sulfuricum.

Experiment I. In eine 5-proz. Lösung werden vom 3.—23. April 10 Larven und 2 Puppen von *Culex* gebracht. Alle Larven tot, von den Puppen ist eine tot, die andere gibt ein ♂ von *C. nemorosus.*

Experiment II. In eine 2-proz. Lösung werden vom 3.—21. April 11 Larven und 3 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot; von den Puppen sind 2 tot und eine gibt ein ♂ von *C. nemorosus.*

Experiment III. In eine 1-proz. Lösung werden vom 3.—21. April 9 Larven und 2 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sowie eine Puppe sind tot. Die zweite Puppe gibt ein ♀ von *C. vexans.*

Experiment IV. In eine 0,50-proz. Lösung werden vom 3.—21. April 9 Larven und 2 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot. Die Puppen geben ein ♀ von *C. vexans* und ein ♀ von *C. nemorosus.*

Experiment V. In eine 0,25-proz. Lösung werden vom 3.—21. April 7 Larven und 1 Puppe von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot, die Puppe gibt ein ♀ von *C. pipiens.*

Experiment VI. In eine 0,05-proz. Lösung werden vom 3.—21. April 7 Larven und 1 Puppe von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot, die Puppe gibt ein ♀ von *C. vexans.*

Ein Blick auf diese Experimente läßt uns sehen, daß Lösungen von Ferrum sulfuricum, auch 0,05-proz., die Entwickelung der Larven hindern, während die Puppen sich auch in 5-proz. Lösungen entwickeln können. Die Larven, welche in den Lösungen von Ferrum sulfuricum zu Grunde gehen, zeigen oft eine Verlängerung der hinteren Extremität; diese Verlängerung besteht aus einem ausgestoßenen Teil des Darmes, der am

Körper fixiert bleibt. Diese Läsion gleicht sehr derjenigen, welche wir bei den mit Aspergillus niger infizierten Larven gefunden haben[1]). Sie bestätigt unsere Vermutung, daß die Sporen von A. niger eine solche Läsion auf mechanische Weise verursachen. Mikroskopisch untersucht, hatten die in Ferrum sulfuricum-Lösungen eingegangenen Larven den noch im Abdomen enthaltenen Darm sowie den ausgestoßenen Teil desselben mit Ferrum sulfuricum-Teilchen gefüllt. Die Larven hatten eine gelblich-grüne Färbung.

5) Bouillie „Bordelaise".

Wurde nach den Angaben von Prof. Faes vom landwirtschaftlichen Institute in Lausanne zubereitet und war vom gebräuchlichen 2-proz. Typus. Es wurde auf folgende Weise verfahren: Man löst 1 Teil Cuprum sulfuricum in 50 Teilen Wasser. Andererseits werden $1^1/_2$ Teile Kalk (CaO) gelöscht und damit 50 ccm Kalkwasser bereitet. Man gießt dann nach und nach das Kalkwasser in die Cuprum sulfuricum-Lösung bis zur Neutralisation derselben, gibt Wasser dazu bis auf 100 Teile und die Bordelaise ist fertig.

In eine „Bordelaiselösung" werden vom 6.—26. April 10 Larven und 3 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot, von den Puppen sind 2 tot und eine gibt ein ♀ von *C. nemorosus*.

Dieser Versuch zeigt, daß die „Bordelaise" ein sehr ungünstiges Milieu für die Larven der Culiciden bildet und daß selbst die Puppen sich nicht immer entwickeln können. Wie in den Lösungen von Ferrum sulfuricum stoßen die Larven auch in der Bordelaise einen Teil des Darmes aus, welcher mit Cuprum sulfuricum gefüllt gefunden wird.

Vom praktischen Standpunkte aus sind die in den Weinbergen und in der Nähe der Wohnungen stehengebliebenen Bordelaisefässer nicht sehr gefährlich als Culicidennester.

6) Cuprum aceticum neutr.

Wir brauchten es in einer wässerigen 1-proz. Lösung, welche zur Behandlung der Reben gebräuchlich ist, und in 0,50- und 0,25-proz. Lösungen.

Experiment I. In eine 1-proz. Lösung werden vom 6.—23. April 9 Larven und 3 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind alle tot. Die 3 Puppen entwickeln sich, aber 2 Imagines sterben bei der Entwickelung (ein ♂ und ein ♀ von *C. nemorosus*). Ein *C. vexans* lebt.

Experiment II. In eine 0,50-proz. Lösung werden vom 6.—23. April 7 Larven und 2 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot, die Puppen geben ein ♂ und ein ♀ von *C. vexans*.



Experiment III. In eine 0,25-proz. Lösung werden vom 6. bis 23. April 9 Larven und 2 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot. Von den Puppen stirbt eine und die andere gibt ein ♀ von *C. nemorosus*.

Die Cuprum aceticum-Lösungen, auch die 0,25-proz., hemmen und hindern das Leben der Culiciden-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. p. 174. u. Bd. XL p. 630.

larven, die Puppen aber können in einigen Fällen sich entwickeln. Oefter und in deutlicherer Weise als mit Ferrum sulfuricum und Bordelaise bewährt sich die Ausstoßung des Darmes in diesen Lösungen (s. Fig.). Die von der Cuprum aceticum-Lösung verursachten Läsionen nähern sich am meisten den von A. niger in den Larven verursachten. Der ausgestoßene Darm kann eine größere Länge als die Larve haben; unter dem Mikroskop zeigt er sich mit Teilchen von Cuprum aceticum gefüllt.

Wie die Bordelaisefässer sind die eine Lösung von Cuprum aceticum enthaltenden Fässer in den Weinbergen nicht als Culicidennester zu betrachten.

7) Melioform.

Dieses Antiseptikum, von der Firma Lüthi & Buchtz in Berlin in den Handel gebracht, ist eine rote, 25 Proz. Formalin und 15 Proz. essigsaure Tonerde enthaltende Flüssigkeit [1]). Da wir schon mit einem anderen, Formalin enthaltenden Präparat (Lysoform) experimentiert hatten [2]), wollten wir auch die Wirkung dieses neuen Präparates auf Larven und Puppen der Culiciden erproben.

Experiment I. In eine 1-proz. Lösung werden vom 2.—23. April 15 Larven und 2 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot, die Puppen haben sich entwickelt, aber die Imagines konnten nicht recht ausschlüpfen und gingen sogleich zu Grunde.

Experiment II. In eine 1-proz. Lösung werden vom 12.—23. April 1 Larve und 2 Puppen von *Culex* gebracht. Alles tot.

Experiment III. In eine 0,50-proz. Lösung werden vom 2.—23. April 9 Larven und 3 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot. Von den Puppen ist eine tot, 2 haben sich entwickelt, aber die Imagines sind beim Ausschlüpfen zu Grunde gegangen.

Experiment IV. In eine 0,25-proz. Lösung werden vom 2.—23. April 7 Larven und 3 Puppen von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot. 2 Puppen geben ein ♂ und ein ♀ von *C. nemorosus*. 1 Puppe stirbt bei der Entwickelung.

Experiment V. In eine 0,20-proz. Lösung werden vom 2.—23. April 12 Larven und 1 Puppe von *Culex* gebracht. Die Larven sind tot; die Puppe gibt ein ♂ von *C. nemorosus.*

Experiment VI. In eine 0,15-proz. Lösung werden vom 2.—23. April 6 Larven von *Culex* gebracht. Alle tot.

Experiment VII. In eine 0,10-proz. Lösung werden vom 2.—23. April 8 Larven von *Culex* gebracht. Alle tot.

Experiment VIII. In eine 0,05-proz. Lösung werden vom 2.—23. April 6 Larven von *Culex* gebracht. Alle tot.

Diese Versuche beweisen uns, daß Melioform die Entwickelung der Culicidenlarven hindert, auch mit 0,05-proz. Lösungen. Die Puppen können Imagines entwickeln, aber oft können diese die Puppenhülle nicht verlassen und gehen auf der Wasseroberfläche zu Grunde, wie wenn sie unter den Lebensverhältnissen der Puppen in den Melioformlösungen gelitten hätten. In seiner Wirkung auf die Larven der Culiciden kann Melioform dem Lysoform gleichgestellt werden.

Lausanne, 19. Nov. 1906.

---

1) Galli-Valerio, B., Therap. Monatsh. 1906. Juni.
2) Atti della soc. ital. per gli studi sulla malaria. Vol. V. e VI. p. 1.

Nachdruck verboten.

Notizen zur Helminthologie Aegyptens. VII.

Ueber einige neue Trematoden der ägyptischen Fauna.

Von Dr. A. **Looss**, Professor of Parasitology, School of Medicine, Cairo.

Mit 7 Figuren.

Ich gebe in dem Folgenden kurze Beschreibungen einiger neuen Formen, die ich im Laufe der letzten Jahre in Aegypten beobachtet habe:

1. *Dicrocoelium hospes* nov. spec.

Fig. 1.



Fig. 1. *Dicrocoelium hospes* n. sp. von der Bauchseite, Vergr. ca. 17.

Gefunden von Dr. Symmers in den Gallengängen von Rindern, die aus dem Sudan importiert und in Cairo geschlachtet wurden.

Länge der konservierten Exemplare 7 bis gegen 9 mm; größte Breite 1,2 mm; dieselbe beginnt auf der Höhe der Genitaldrüsen, nimmt von da nach vorn allmählich, aber nicht stark ab, bleibt dagegen bis an das Hinterende gleich, so daß dieses breit abgerundet endet. Haut sehr dünn, glatt. Saugnäpfe in der Größe nur wenig verschieden, Mundsaugnapf 0,33—0,35, Bauchsaugnapf, bei normal gestrecktem Körper von jenem etwa 0,9—1 mm abstehend, 0,38 mm im Durchmesser. Pharynx klein, kugelig, 0,1—0,11 mm dick. Oesophagus dünn, etwa 3mal so lang wie der Pharynx. Darmschenkel wegen ihres schwach entwickelten Epitheles schwer sichtbar, von sehr ungleicher Länge; der linke ungefähr 2 mm vor dem Hinterende endigend, der rechte um 0,5—0,7 mm länger. Genitalöffnung median, gerade unter oder etwas vor der Darmgabelung gelegen. Cirrhusbeutel wenig muskelkräftig, schlank keulenförmig, bis etwa zum Zentrum des Bauchsaugnapfes hinabreichend. Samenblase wenig gewunden, Pars prostatica klein, Ductus ejaculatorius ungefähr halb so lang wie der Cirrhusbeutel und gestreckt in ihm liegend. Hoden ziemlich dicht hinter dem Bauchsaugnapfe, mit minimaler Abweichung gerade und unmittelbar hintereinander; ganzrandig, von querovaler Form und die Darmschenkel leicht nach außen drängend. Ovarium etwas hinter dem Hoden, linksseitig von querovaler Gestalt und etwa halb so groß wie diese. Laurerscher Kanal vorhanden, ein Receptaculum seminis mit Bestimmtheit nicht zu erkennen. Dotterstöcke aus relativ wenigen, aber großen Follikeln aufgebaut, beginnen am Ende des Schalendrüsenkomplexes und reichen von dort 0,7—0,8 mm weit nach hinten; auch sie liegen völlig innerhalb der Darmschenkel. Absteigender und aufsteigender Uterusast deutlich nebeneinander (ersterer links, letzterer rechts) in der Weise, daß ihre Querschlingen, die etwa die halbe Körperbreite

einnehmen, in der Mittellinie zur Berührung und hier und da auch Deckung gelangen. Vom Ende der Dotterstöcke ab geht der Uterus auf der Ventralseite in Zickzackwindungen zwischen den Organen durch, bis er am Ende des Cirrhusbeutels in die Vagina übertritt. Diese dünn, aber relativ lang, denn sie beschreibt, während sie neben dem Cirrhusbeutel einherzieht, mehrfache kurze Windungen.

Eier vom Typus der *Dicrocoelium*-Eier, 0,35—0,4 mm lang, 0,25 mm dick, mit mäßig dicker, dunkelgelbbrauner Schale, ziemlich regelmäßig oval, jedoch am Deckelpole meist etwas breiter als am entgegengesetzten. Sie enthalten in den terminalen Uterusschlingen ein reifes Miracidium, in dessen Hinterkörper zwei ebensolche körnige und stark glänzende Körper liegen, wie bei *Dicrocoelium lanceatum*.

2. *Philophthalmus nocturnus* nov. spec.

Fig. 2.

Unter den Augenlidern von *Athene noctua*, Fayum. (Unter 8 Individuen der Art, die von 2 Exemplaren des Wirtes gesammelt wurden, befanden sich 2 Exemplare von *Philophthalmus palpebrarum*, so daß *Athene noctua* den Wirten dieser Art hinzuzufügen ist.

Länge normal gestreckter, erwachsener Individuen 5—7 mm. Körper dünn, vor dem Bauchsaugnapfe halsartig verschmälert (mittlere Breite 0,5 mm), hinter demselben spindel- oder löffelförmig verbreitert; Maximalbreite je nach der Streckung $1^1/_2$—$2^1/_2$ mm. Haut unbewaffnet, im Vorderkörper auch mit glatter Oberfläche, im Hinterkörper mit einer außerordentlich feinen Körnelung versehen, die sich gleichmäßig über die ganze Bauchfläche ausbreitet und nur gegen das Leibesende hin wieder verschwindet. Sie ist lediglich eine Oberflächenstruktur der Haut selbst und demnach etwas anderes, als die in gewisser Hinsicht ähnliche Beschuppung der Haut, die sich nach Braun bei *Ph. lucipetus* findet (1902, p. 33 u. Fig. 22, Taf. 2). Mundsaugnapf im Querdurchmesser 0,43—0.52 mm messend, der Länge nach meist etwas kürzer. Bauchsaugnapf im Mittel ca. $1^1/_8$ mm von dem ersteren entfernt, meist etwas queroval, mit einem Maximaldurchmesser von 0,65—0,7 mm. Pharynx dicht auf den Mundsaugnapf folgend, sehr kräftig, 0,45 mm lang, 0,35 mm dick. Oesophagus ganz kurz, bei völlig gestreckten Exemplaren etwa halb so lang wie der Querdurchmesser des Pharynx. Darmschenkel von auffallend geringer Weite (0,03—0,05 mm), bis ins äußerste Hinterende reichend. Exkretionsblase im Prinzip Y-förmig, mit ganz kurzem, bis an den hinteren Hoden reichendem und gewöhnlich sackartig aufgetriebenem Stamme und aus demselben seitlich entspringenden Schenkeln, die sich mit Bestimmtheit bis an



Fig. 2. *Philophthalmus nocturnus* n. sp. von der Bauchseite, Vergr. ca. 19.

den Bauchsaugnapf verfolgen lassen, allem Anscheine nach aber noch weiter nach vorn bis an die Höhe der Genitalöffnung gehen, somit also eine ähnliche Ausdehnung besitzen, wie sie Braun bei *Ph. lucipetus* beobachtet hat.

Der Genitalporus liegt unter der Darmgabelung, also dem Ende des Pharynx sehr genähert. Kopulationsorgane außerordentlich entwickelt. Cirrhusbeutel in gestrecktem Zustande ungefähr 1,6 mm lang; davon kommt beinahe die Hälfte (0,75 mm) auf den leicht spindelförmig angeschwollenen Teil, der die einfache, nicht gewundene Samenblase enthält und gewöhnlich hinter dem Cirrhusbeutel gelegen ist. Pars prostatica gegen den Penis nicht scharf abzugrenzen, letzterer mit namentlich gegen das Ende hin sehr kräftiger Muskulatur und stark gefalteter innerer Bekleidung, anscheinend aber unbewaffnet. Hoden im Hinterende, leicht seitlich dicht hintereinander, bei allen Individuen mit mehrfach scharf eingekerbten Rändern. Ovarium kurz vor den Hoden median gelegen und von rundlicher Gestalt. Schalendrüsenkomplex zwischen ihm und dem vorderen Hoden. Dotterstöcke einfach schlauchförmig wie bei *Ph. palpebrarum*, zum größten Teile außerhalb der Darmschenkel gelegen und nach vorn zu das Hinterende der Samenblase nicht erreichend. Ein kurzer Laurerscher Kanal ist vorhanden, ein Receptaculum seminis scheint zu fehlen. Die Anfangsschlingen des Uterus, die hinter dem Keimstock gelegen sind, erscheinen bei allen Individuen prall mit Samenfäden gefüllt (Receptaculum seminis uterinum), zwischen denen sich hier und da neu gebildete Eier finden. Die übrigen Uteruswindungen im Prinzip quer verlaufend und über die Darmschenkel hinaus bis an die Körperränder heranreichend. Hier bilden die hinteren Querwindungen Längsschlingen, die nach hinten, die nach vorn folgenden mittleren Querwindungen Längsschlingen, die nach vorn verlaufen. Dieser Teil des Uterus hat demnach roh die Form eines H, in dessen hinterem Hohlraum die inneren weiblichen Keimorgane gelegen sind, während der vordere Hohlraum von den vordersten Uteruswindungen ausgefüllt wird, die jetzt keine Längsschlingen mehr bilden. Die Vagina ist außerordentlich lang und geräumig, außerdem durch Auflagerung von sehr starken Ringmuskeln ausgezeichnet, die beim Uebergang in den Uterus ganz unvermittelt aufhören. Sie dürfte mindestens die doppelte Länge des Cirrhusbeutels haben, doch ist eine richtige Schätzung schwer, da sie meist in starke Windungen gelegt ist. Ueberdies ist sie nur bei jüngeren Individuen gut zu erkennen, bei denen die Füllung mit Eiern noch nicht sehr weit fortgeschritten ist; bei älteren wird sie meist bis an die Genitalöffnung hin mehr oder minder dicht mit Eiern gefüllt gefunden.

Die letzteren sind sehr dünnschalig, ca. 0,1 mm lang und 0,04 bis 0,05 mm dick, an dem einen Pole breit abgerundet, nach dem andern zu merklich verjüngt. Sie enthalten schon lange vor der Ablage ein reifes Miracidium mit Augenfleck, welcher letztere ganz regelmäßig dem hinteren Eipole genähert liegt. Einen Deckel habe ich an diesem Pole nicht zu erkennen vermocht.

Von den bekannten *Philophthalmus*-Arten steht *Phil. palpebrarum* der neuen Species unzweifelhaft am nächsten, während *Phil. lucipetus* und *Phil. lacrymosus*, die untereinander wieder in näheren Beziehungen stehen, sich von ihr etwas entfernen.

3. *Parabascus* (n. g.) *lepidotus* (n. sp.).

Fig. 3.

Ein einziges Exemplar unter zahlreichen Individuen von *Pycnoporus acetabulatus* aus dem Darme von *Vesperugo kuhli*, Cairo.

Länge 1,1 mm; der Umriß des relativ dicken Körpers (im konservierten Zustande) dem Profile eines Froschblutkörperchens ähnlich: verbreitertes Mittelstück (0,43 mm) mit ungefähr gleichmäßig verjüngtem



Fig. 3. *Parabascus lepidotus* n. g. n. sp. A vom Bauche, B vom Rücken; Vergr. ca. 95.

Vorder- und Hinterende. Haut sehr stark und dicht bewaffnet, zuerst mit breiten Schuppen, die auf der Bauchseite von der Höhe der Genitalöffnung an (auf der Rückenseite etwas weiter hinten) schmäler zu werden beginnen und schließlich in spitze Stacheln übergehen; das letzte Körperende ist von ihnen frei. Mundsaugnapf leicht subterminal, kugelig, mit 0,083 mm Durchmesser; Bauchsaugnapf beinahe doppelt so groß, 0,15 mm; nicht frei auf der Körperoberfläche erscheinend, sondern etwas in die Tiefe versenkt und von außen her von einer Hautduplikatur bedeckt, die eine von unregelmäßig gefaltetem Rande begrenzte Oeffnung frei läßt, durch die man in der Tiefe den eigentlichen Saugnapf mit seiner Mündung sieht. Letztere ist in dem hier beschriebenen Individuum

längsgestellt und ziemlich schmal (Fig. 3 A). Pharynx klein (0,056 mm lang, 0,037 mm dick); Oesophagus sehr lang und dünn, gabelt sich etwas vor dem Bauchsaugnapfe. Die Darmschenkel liegen mehr dorsal (aber unter den dort befindlichen Dotterstöcken), biegen in ziemlich weitem Bogen um den Bauchsaugnapf herum und erscheinen im Hinterkörper hier und da ventral zwischen den Uterusschlingen; ihre Enden liegen auf nicht ganz gleicher Höhe etwas vor der Hinterleibsspitze. Von dem Exkretionsorgan ist außer dem terminal gelegenen Porus nichts zu sehen.

Männliche und weibliche Genitalöffnungen liegen dicht hintereinander (erstere vorn, letztere hinten, beide in einer gemeinsamen Vertiefung) unmittelbar am linken Rande der Oeffnung in der oben beschriebenen Hautduplikatur, welche den Bauchsaugnapf überdeckt (Fig. 3 A), demnach in diesem Zustande auch links neben der Oeffnung des Bauchsaugnapfes. Es erscheint möglich, daß dieser während des Lebens nach Zurückziehung der Hautduplikatur nach außen vorgeschoben werden kann; dann würden die Genitalöffnungen von der Saugnapföffnung weiter abrücken, ihre Lage auf dem ursprünglichen Niveau aber beibehalten. Kopulationsorgane sind vorhanden und außerordentlich stark und muskelkräftig. Der große, dick keulenförmige Cirrhusbeutel schlägt sich nach links zu dicht um den Bauchsaugnapf herum, so daß bei Betrachtung des Tieres von der Bauchseite nur sein Anfangsteil (Fig. 3 A), bei Betrachtung vom Rücken seine hintere Hälfte sichtbar wird (Fig. 3 B). Ductus ejaculatorius, Pars prostatica, und eine mehrere Schlingen bildende Samenblase sind wohldifferenziert und von zahlreichen Prostatazellen umgeben.

Die beiden großen, unregelmäßig ovalen Hoden liegen seitlich und etwas schräg hintereinander, etwa in der Mitte des postacetabularen Körperteiles; wegen ihrer ganz dorsalen Lage und der starken Ausbreitung des Uterus unter der Ventralfläche sind sie bei Betrachtung des Tieres von der Bauchseite nicht zu sehen (Fig. 3 B). Der ebenfalls große, gestreckt birnförmige Keimstock liegt dem Cirrhusbeutel gegenüber rechts neben und etwas über dem Bauchsaugnapf. Der Keimgang entspringt von seinem Hinterende, der Schalendrüsenkomplex findet sich nahezu median kurz hinter dem Saugnapfe, aber so tief, daß er weder von oben noch von unten genauer zu analysieren ist. Ein Laurerscher Kanal ist vorhanden, die Existenz eines Receptaculum seminis muß zweifelhaft bleiben. Die Dotterstöcke beginnen vor Keimstock, Bauchsaugnapf und Cirrhusbeutel und reichen nach vorn etwas über die Darmgabelung hinaus. Ihre Follikel liegen hauptsächlich dicht unter der Rückenfläche, kommen in deren Mittellinie mehrfach in gegenseitige Berührung, biegen aber in den Seiten noch so weit ventralwärts herab, daß sie auf der Bauchseite erscheinen (Fig. 3 B). Die Sammelgänge laufen etwas im Bogen nach hinten und treten über dem Schalendrüsenkomplex zur Bildung eines kleinen Dotterreservoirs zusammen; es liegt, ebenso wie die Sammelgänge, ganz dorsal. Die Uterusschlingen fallen durch ihre relativ beträchtliche Weite auf und sind stark mit Eiern gefüllt. Sie breiten sich hauptsächlich entlang der Ventralfläche aus, steigen aber überall da, wo keine Organe liegen, auch bis unter die Rückenfläche hinauf. Sie liegen fast gänzlich hinter dem Bauchsaugnapf; ihr Verlauf im einzelnen ist aber schwer zu verfolgen.

Die lichtbraunen Eier haben eine mitteldicke Schale mit deutlichem Deckel und sind 0,022—0,023 mm lang und 0,013 mm dick.

Zu der hier in ihrem typischen Vertreter beschriebenen Gattung *Parabascus* gehört unzweifelhaft auch das vor einigen Jahren von

Braun (1900, p. 228, Tab. 10, Fig. 6 u. 7) beschriebene *Distomum semisquamosum* aus *Vesperugo noctula*; ferner sehr wahrscheinlich das ebenda (p. 223, Fig. 12, Tab. 10) beschriebene *Distomum limatulum* aus einer brasilianischen *Molossus*-Art. Wegen des schlechten Erhaltungszustandes der Exemplare mußte die von Braun gegebene Beschreibung lückenhaft bleiben; unter den aufgeführten Einzelheiten aber findet sich keine, die nicht auf *Parabascus* anwendbar wäre, und einige, wie z. B. die Lage des Genitalporus links neben dem Bauchsaugnapfe, die starke Entwickelung und Krümmung des Cirrhusbeutels, Lage der Dotterstöcke u. s. w. sind sogar für *Parabascus* recht bezeichnend. Eine vierte Art des Genus endlich könnte man in dem von van Beneden (1872, p. 25, Fig. 1—6, 18, Tab. 6) beschriebenen „*Distoma lima* Rudolphi" vermuten. Daß die Art, welche dem belgischen Autor vorgelegen hat, das echte *Distoma lima* Rudolphis nicht gewesen sein kann, hat Braun bereits festgestellt; mir fällt unter den — im übrigen recht flüchtigen — Angaben van Benedens besonders die aus den Fig. 5 u. 6 ersichtliche, starke Entwickelung der Begattungsorgane und ihre getrennte Mündung neben dem Bauchsaugnapfe auf, die bei dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse stark für *Parabascus* sprechen würde; auch die „aspérités" auf der vorderen Körperhälfte würden hierzu stimmen. Andererseits erinnern aber die längsgestellte Oeffnung des Mundsaugnapfes, die Richtung des Cirrhusbeutels nach hinten und der aus der Fig. 4 ersichtliche Verlauf des Uterus wieder an die *Lepoderma*- und *Plagiorchis*-Arten. Genaueres darüber, was van Beneden eigentlich gesehen hat, dürfte nur eine Nachuntersuchung der Parasiten westeuropäischer Fledermäuse bringen können — und das auch nur vielleicht!

4. *Lecithodendrium granulosum* n. spec.

Fig. 4.

Häufig im Darm von *Vesperugo kuhli*, Cairo.

Konservierte Individuen gewöhnlich vollkommen kugel- oder eiförmig zusammengezogen; einige gestreckter erhaltene um 0,5 mm lang und 0,2—0,25 mm breit und dick. Haut unbewaffnet, aber mit äußerst fein granulierter Oberfläche. Von den Saugnäpfen ist der hintere immer größer als der vordere, und zwar betragen die normalen Maße etwa 0,05—0,06 mm, bezw. 0,07—0,08 mm. Einige Individuen zeigen aber beide Näpfe in weit geöffnetem Zustande, wobei der Mundsaugnapf dann eine ausgesprochene Trichterform annimmt; in solchen Fällen steigen die Maße, der Quere nach gemessen, für den Mundsaugnapf im Maximum bis auf 0,08 mm, für den Bauchsaugnapf im Maximum bis auf 0,1 mm. Pharynx klein, durchschnittlich 0,02 mm groß; Darmschenkel kurz. Exkretionsporus schwach ventral, Schenkel der Blase relativ lang, bis ungefähr zur Mitte der Hoden nach vorn reichend; ihre Enden werden, je nach der Kontraktion, teils neben, teils unter den Hoden gefunden (Fig. 4 A).

Genitalöffnung median kurz vor dem Bauchsaugnapfe; männlicher und weiblicher Leitungsweg trennen sich fast sofort. Das Metraterm läuft auf der linken Seite um den Prostatadrüsenkomplex herum, welcher letztere einen kurzen Ductus ejaculatorius, kleine Pars prostatica, und relativ lange, gewundene Samenblase umschließt. Hoden unregelmäßig rundlich, auf gleicher Höhe, und nach vorn immer über den Vorderrand des Bauchsaugnapfes hinausragend. Keimstock von fast derselben Größe

wie die Hoden, unregelmäßig dreieckig, sein nach vorn gerichtetes, verbreitertes Ende 2 oder 3mal schwach eingekerbt. Er liegt dorsal zwischen Bauchsaugnapf und rechtem Hoden, sein Hinterende mehr in der Tiefe des Körpers. Bei sehr stark kontrahierten Individuen steht er fast senkrecht zur Körperfläche und sein Umriß erscheint von oben gesehen rundlich oder oval, da das eingekerbte Ende dann gerade auf den Beschauer zu gerichtet ist. Die rosettenförmigen, aus etwa 12 großen Follikeln zusammengesetzten Dotterstöcke liegen ganz dorsal dicht hinter und zum Teil auch über den Hoden; die queren Dottergänge gehen immer leicht nach vorn zu, um ventral unter dem Keimstock zu einem kleinen Dotterreservoir zusammenzutreten (in Fig. 4B angedeutet); in der Nähe desselben sieht man gelegentlich auch ein kleines Receptaculum seminis;

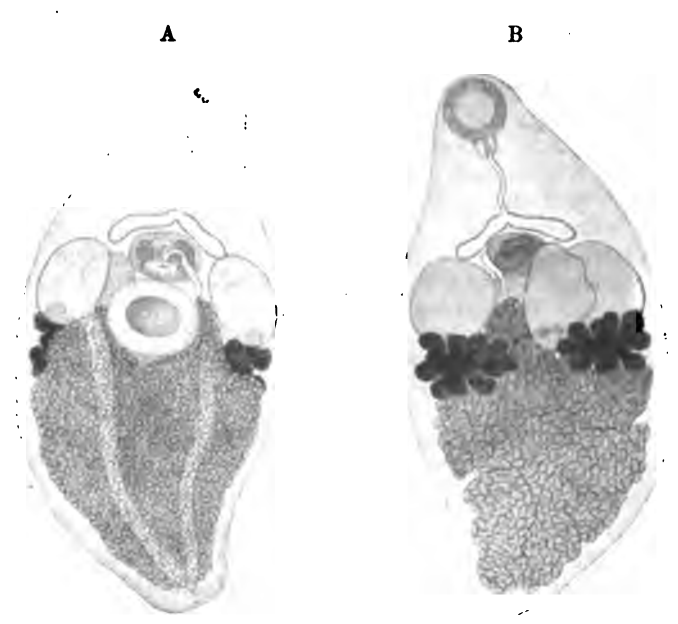


Fig. 4. *Lecithodendrium granulosum* n. sp. A von der Bauch-, B von der Rückenseite; Vergr. ca. 150. In der Zeichnung A sind die Eier zu klein ausgefallen.

ein Laurerscher Kanal ist vorhanden. Die Uterusschlingen scheinen hauptsächlich quer zu verlaufen, doch ist davon nicht viel zu erkennen, da der Hinterkörper der Tiere von den Hoden ab meist prall mit Eiern gefüllt ist.

Die Eier sind regelmäßig oval, leicht gelbbraun, 0,019 mm lang, 0,011 mm dick.

Lecithodendrium granulosum ist die Art, die ich früher (1899 p. 715) unter Vorbehalt mit *Lecithodendrium ascidia* (van Ben.) (= *Dist. lagena* Brds.) in Beziehung gebracht hatte. Da aber, wie aus Brauns Mitteilungen (1900, p. 224) ersichtlich, letztere Form bei 1,18 mm Länge und 0,33 mm Breite nur einen Mundsaugnapf von 0,082 mm und einen kleineren Bauchsaugnapf von 0,075 mm besitzt, so kann eine Identität beider Formen nicht mehr in Frage kommen.

5. *Lecithodendrium urna* n. spec.

Fig. 5.

In der ersten Hälfte des Darmes von *Vesperugo kuhli*, Cairo.

Erwachsene Tiere haben im konservierten Zustande gedrungene Birnform mit etwas verjüngtem Kopfteile und breit abgerundetem Hinterende. Die Länge beträgt 0,5—0,55 mm, die größte Breite 0,3—0,33 mm und die größte Dicke ebenfalls 0,3 mm. Die Haut ist eigentlich unbewaffnet, an ihrer Oberfläche aber in zahllose feinste, nach hinten gerichtete Spitzchen zerfallen. Diese beginnen klein etwas hinter dem Mundrande, nehmen dann schnell ihre volle Größe an und verschwinden gegen das Hinterende zu allmählich wieder. Der Mundsaugnapf besitzt

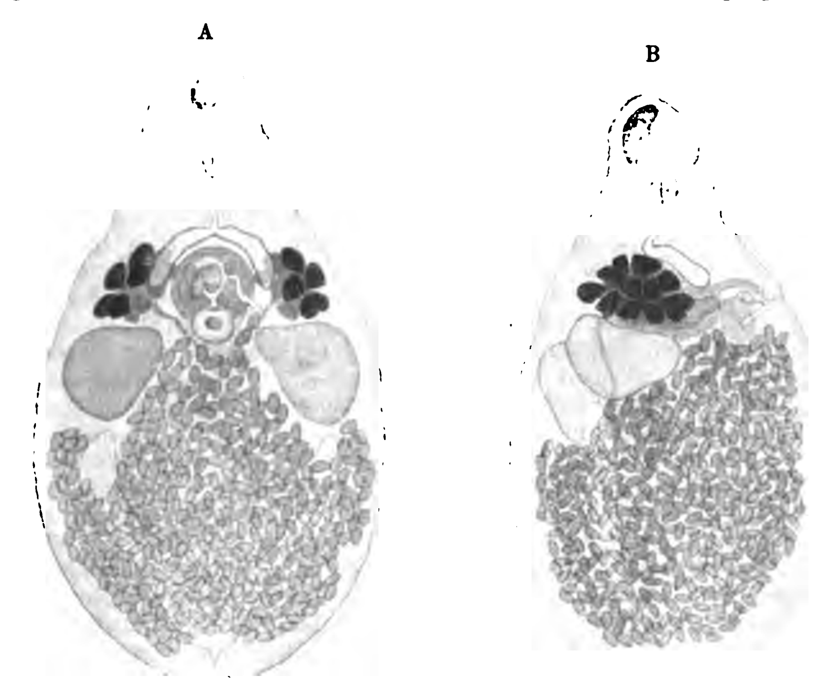


Fig. 5. *Lecithodendrium urna* n. sp. A vom Bauche, B von der rechten Seite; Vergr. ca. 160.

einen Durchmesser von 0,06—0,07 mm; der Bauchsaugnapf ist bedeutend kleiner und in konservierten Individuen meist queroval, 0,05—0,055 mm breit, aber nur ca. 0,04 mm lang. Er liegt dann auch nicht frei an der Körperoberfläche, sondern am Grunde einer kleinen spaltförmigen Vertiefung, die ihre Entstehung aber wohl nur der Kontraktion des Körpers bei der Konservierung verdankt; die Lecithodendrien vermögen bekanntlich ihre Saugnäpfe sehr weit in den Körper zurückzuziehen.

Die Einsenkung ist in Fig. 5 A nicht angedeutet, hingegen in Fig. 5 B deutlich zu erkennen. Der Pharynx, vom Mundsaugnapfe durch einen kurzen Präpharynx getrennt, hat einen Durchmesser von 0,03—0,033 mm; der dünne Oesophagus von reichlich doppelter Länge des Pharynx biegt (in konservierten Individuen) nach der Dorsalseite ab und teilt sich dort in die beiden kurz schlauchförmigen Darmschenkel, die in den Seiten des

großen Prostatadrüsenkomplexes sich wieder bauchwärts wenden und (von der Bauchseite gesehen) noch vor dem Vorderende des Bauchsaugnapfes enden (Fig. 5 B). Die Exkretionsblase hat die für die Lecithodendrien charakteristische V-Form; ihre Schenkel reichen nach vorn bis dicht an die Hoden heran.

Der Genitalporus liegt median dicht vor dem Bauchsaugnapfe, bei konservierten Individuen aber nicht frei auf der Körperfläche, sondern in der vorderen Wand der oben erwähnten Einsenkung. Er führt in einen kurzen unpaaren Gang, aus dem sich dann nach der linken Seite das Metraterm isoliert. Der Austrittsstelle des letzteren gegenüber ist die Wand des Ganges in ein kissenartiges, anscheinend muskulöses Organ von unbekannter Bedeutung differenziert, welches mehr oder weniger weit in das Lumen des Ganges vorspringt (in Fig. 5 A auf der linken Seite, in Fig. 5 B unten erkennbar; ihm gegenüber liegt die Austrittsstelle des Metraterms). Der Ductus ejaculatorius erweitert sich bald zu einer wohldifferenzierten Pars prostatica; sie ist zusammen mit der langen und mehrfach aufgeknäuelten Samenblase von zahlreichen Prostatazellen umgeben und durch die übliche Parenchymlamelle als cirrhusbeutelähnlicher Körper gegen das Parenchym abgegrenzt. Bei konservierten Individuen steigt dieser Körper ziemlich gerade nach dem Rücken auf und reicht bis in die Nähe der Rückenfläche (Fig. 5 B). Die großen, ihrer Form nach meist abgerundet dreieckigen Hoden liegen in den Seiten, mit ihren Vorderrändern auf der Höhe des Bauchsaugnapfes. Der ebenfalls große, ovale oder birnförmige Keimstock findet sich ungefähr median ganz dorsal, und ist deshalb bei konservierten Tieren von der Bauchseite aus nicht zu sehen (Fig. 5 A). Schalendrüsenkomplex hinter ihm, Laurerscher Kanal und Receptaculum seminis wegen der Dicke der Tiere nicht mit Sicherheit zu erkennen, aber zweifellos vorhanden. Die traubenförmigen, aus wenigen, großen Follikeln zusammengesetzten Dotterstöcke liegen in den Seiten dicht vor den Hoden; ihre Dottergänge gehen schräg nach hinten (in Fig. 5 B unter dem rechten Hoden sichtbar), ungefähr der Rückenfläche parallel.

Bei reifen Tieren ist der ganze Körperraum hinter den Hoden von den Uterusschlingen, resp. Eiern angefüllt, nur die vorderen Enden der Exkretionsblasenschenkel bleiben frei. Die blaßbraunen, dünnschaligen Eier sind 0,024—0,026 mm lang und 0,013—0,015 mm breit.

6. *(Pycnoporus) inversus* n. spec.

Fig. 6.

Ein einziges, nicht sehr gut erhaltenes Exemplar aus dem Darme von *Vesperugo kuhli*, Cairo.

Länge des gestreckt konservierten Tieres 1,2 mm; Körper in ganzer Ausdehnung fast cylindrisch, in der Mitte nur unmerklich verdickt, 0,17 mm breit und ebenso dick; Körperenden fast gleichmäßig breit abgerundet. Haut auf der vorderen Körperhälfte verloren, auf der hinteren erhalten, glatt, möglicherweise also in ganzer Ausdehnung unbewaffnet. Mundsaugnapf länger als breit (Maße 0,12—0,10 mm), seine Oeffnung längsgestellt und bis zum Scheitelpunkt hinaufreichend; die Seitenränder der Mundöffnung bilden beim Uebergang von der Scheitel- auf die Bauchfläche jederseits eine ziemlich scharf vorspringende Ecke (Fig. 6 B). Bauchsaugnapf ziemlich klein, aber relativ muskulös, 0,063 mm im Durchmesser, seine Höhlung ganz zusammengezogen. Pharynx klein, kugelig, 0,042 mm groß; Oesophagus dünn, lang, bildet dicht hinter dem Pharynx

eine Schleife nach dem Rücken zu. Darmschenkel kurz, sackförmig, den Vorderrand des Prostatadrüsenkomplexes gerade erreichend. Exkretionsblase mit Ausnahme des hintersten Abschnittes nicht mehr zu erkennen, doch sieht man deutlich, daß dicht hinter dem Porus eine Teilung in zwei Schenkel erfolgt.

Genitalöffnung median etwas vor dem Bauchsaugnapfe. Kopulationsorgane scheinen nicht vorhanden zu sein, wenigstens ist von einem muskulösen Cirrhusbeutel nichts zu erkennen. Aus dem kurzen Genitalsinus entspringt das Metraterm vorn und zieht dann auf der linken Seite nach hinten. Die männlichen Endorgane repräsentieren einen birnförmigen Körper, in dem eine mehrfach aufgewundene Samenblase zu erkennen ist; vor dieser scheint eine kleine Pars prostatica zu liegen; der Ductus ejaculatorius ist ganz kurz. Die beiden großen, scheibenförmig flachgedrückten Hoden von ovalem Umriß liegen in den Seiten, mit der Fläche ihrer größten Ausdehnung parallel zur Sagittalebene des Körpers. Sie haben ihren Platz kurz hinter dem Bauchsaugnapf, der linke etwas weiter hinten als der rechte. Der kleinere, umgekehrt birnförmige Keimstock liegt ziemlich median vor ihnen, zum Teil noch auf demselben Niveau mit dem vorderen Hoden, und ganz dorsal (Fig. 6 B), so daß er von der Ventralseite des Tieres nicht sichtbar ist. Die Dotterstöcke, von der Form zweier aus wenigen großen Follikeln zusammengesetzter Rosetten, liegen dicht vor den Hoden. Sie sind wie diese orientiert und reichen nach vorn noch etwas über den Vorderrand des Bauchsaugnapfes hinaus. Ihre Sammelgänge gehen schräg nach hinten und dem Rücken und bilden am Hinterende des Keimstockes ein kleines Dotterreservoir (Fig. 6 B). Hier muß auch der Schalendrüsenkomplex liegen, wenigstens sieht man von dieser Stelle her einen feinen Laurerschen Kanal kommen. Die Existenz eines Receptaculum seminis ist zweifelhaft. Die Schlingen des Uterus, nicht sehr zahlreich, aber relativ weit, erfüllen den Raum hinter den Hoden bis nahe an das Körperende; der aufsteigende Ast geht auf der Ventralseite zwischen den Hoden und Dotterstöcken durch bis an den Bauchsaugnapf, wo er in das Metraterm übergeht.

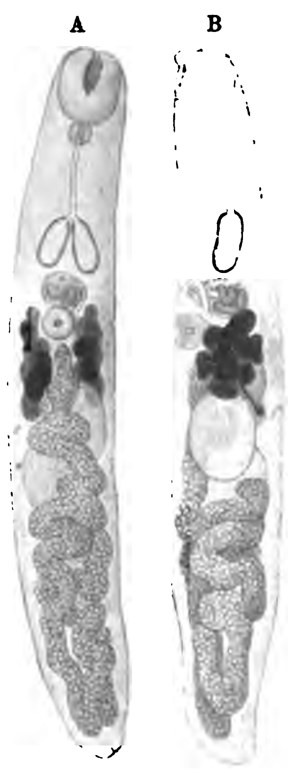


Fig. 6. (*Pycnoporus*) *inversus* n. sp. A vom Bauche, B von der linken Seite; Vergr. ca. 90.

Die mäßig dickschaligen Eier sind hinten etwas breiter als vorn; sie haben eine lichtbraune Farbe und sind 0,017 mm lang und 0,011 mm dick.

In ihrer gesamten inneren Organisation steht diese Form des Genus *Pycnoporus* außerordentlich nahe und es ist nur die fehlende Bestachelung der Haut und das Verhalten der Saugnäpfe, vor allem die eigentümliche Bildung des Mundsaugnapfes, welche sie von ihm trennen. Es ist möglich, daß diese Unterschiede später zur Aufstellung einer beson-

deren Gattung nötigen werden; bis auf weiteres glaube ich, die neue Art provisorisch bei *Pycnoporus* belassen zu können.

Es mag bei dieser Gelegenheit bemerkt werden, daß auch *Pycnoporus acetabulatus*, den ich bei seiner ersten Beschreibung (1899, p. 717, Tab. 27, Fig. 36) nach einem lebendig gepreßten Individuum abbildete, wenn durch Schütteln konserviert, eine sehr langgestreckte, fast lineare Gestalt annimmt.

7. *Pygidiopsis* (n. g.) *genata* (n. spec.).

Fig. 7.

Eine sehr kleine Form, in vereinzelten Exemplaren unter den *Heterophyes fraternus* im Darme von *Pelecanus onocrotalus*, Cairo.

Maximallänge gestreckt konservierter Individuen bis gegen 0,5 mm, meist aber nicht mehr wie 0,3—0,4 mm. Körperform *Heterophyes*-ähnlich, d. h. aus einem blattartig dünnen Vorderkörper und einem dicken Hinterkörper bestehend, die dicht hinter dem Bauchsaugnapfe ziemlich unvermittelt ineinander übergehen und sich bei der Konservierung mehr oder weniger stark aufeinander zu biegen. Abweichend von *Heterophyes*, sind hier die Seitenränder beider, i. e. des Vorder- und Hinterkörpers, nach der Ventralseite eingekrümmt, so daß stark kontrahierte Individuen eine ganz eigenartige Körperform annehmen können. Vorderkörper im Umriß je nach der Kontraktion entweder mehr oval oder fast dreieckig nach dem Mundende verjüngt; Hinterkörper stets breiter, im Maximum 0,2—0,22 mm, abgerundet, und nur das den Exkretionsporus tragende äußere Ende gelegentlich etwas papillenartig erhoben. Haut dicht mit breiten, kurzen Schuppen bewaffnet, die erst in unmittelbarer Nähe des Hinterendes ganz aufhören. Saugnäpfe von fast gleicher Größe; Mundsaugnapf im Durchmesser um 0,04 mm schwankend, Bauchsaugnapf eine Spur kleiner, 0,037—0,039 mm, und, wie schon erwähnt, dicht vor dem Uebergang in den verdickten Hinterkörper gelegen. Pharynx meist lang gestreckt (Maße 0,036 : 0,024), vom Mundsaugnapf durch einen so langen Präpharynx getrennt, daß er meist in der Mitte des unpaaren Darmabschnittes gelegen erscheint. Darmschenkel mittellang, biegen vor dem Bauchsaugnapfe ziemlich scharf nach den Seiten und damit ventralwärts ab, kehren aber auf ungefähr halber Höhe des Hinterkörpers wieder nach der Medianebene und dem Rücken um und endigen hier einander gerade gegenüber. Exkretionsporus auf der schon erwähnten, papillenartigen Hinterleibsspitze; Blase im Prinzip V-förmig, die kurzen Schenkel unter der Rückenfläche zwischen Hoden und das große Receptaculum seminis sich eindrängend (Fig. 7 B u. C). Hinter ihnen sieht man vom Stamme der Blase noch jederseits einen zweiten Seitenast ausgehen, der sich von hinten her dicht an die Hoden anlegt; es war aber nicht mit Sicherheit festzustellen, ob diese beiden Seitenäste selbständige Bildungen darstellen. Wahrscheinlicher ist, daß die normalerweise weiten, echten Blasenschenkel von den Hoden derart gegen die Rückenfläche gedrängt werden, daß ein Teil von ihnen vor, ein anderer Teil von ihnen hinter denselben zum Vorschein kommt.

Genitalporus ungefähr median dicht vor dem Bauchsaugnapf. Er stellt einen ziemlich breiten und tiefen Spalt dar, dessen rechte Hälfte sich anscheinend direkt in das äußerst blasse und schwer sichtbare Metraterm fortsetzt. Die linke Hälfte des Genitalspaltes führt zunächst in einen linsenförmigen, mit der Ebene seiner größten Ausdehnung senkrecht zur Körperfläche gestellten Körper von etwa halber Größe des

Bauchsaugnapfes, dessen Innenwand (der Körper ist selbstredend hohl, seine Höhlung eine Fortsetzung des Genitalspaltes) in eine kleine Anzahl

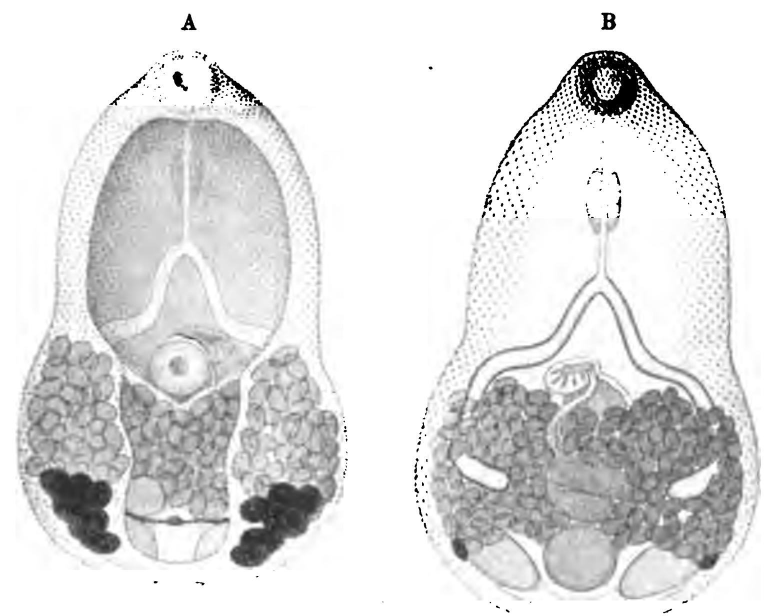
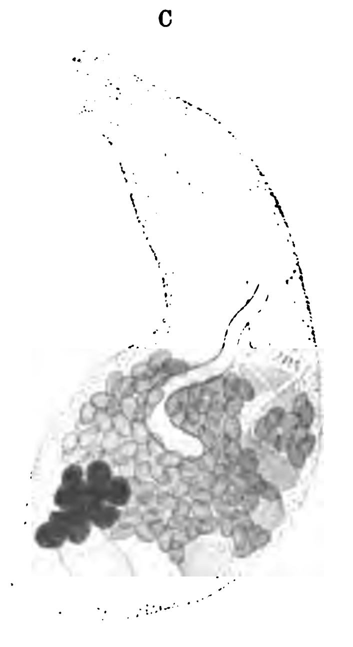


Fig. 7. *Pygidiopsis genata* n. g. n. sp. A vom Bauche, B vom Rücken, C von der linken Seite; Vergr. ca. 200.



fächerförmig nach der Peripherie ausstrahlender Falten gelegt ist. An einer der Genitalöffnung ungefähr gegenüberliegenden Stelle am Grunde des Körpers nimmt der eigentliche Ductus ejaculatorius seinen Ursprung. Der Körper kann, wie eines der Individuen zeigt, nach außen vorgestülpt werden und repräsentiert dann einen knopfartigen, glattwandigen Anhang mit einer Oeffnung an seiner freien Fläche: der Oeffnung des Ductus ejaculatorius. Dieser letztere ist ebenfalls sehr blaß und schwer erkennbar; er geht nach kurzem Verlaufe in eine schwach entwickelte Pars prostatica über — die wenigen Prostatazellen liegen zerstreut in der Nachbarschaft — und diese schließlich in eine S-förmige Samenblase, von der gewöhnlich nur die beiden letzten Windungen in U-Form sichtbar sind (Fig. 7 B); sie liegen, ebenso wie der Ductus selbst, dicht unter der Rückenfläche. Die beiden längsovalen Hoden haben, wie bei *Heterophyes* und *Ascocotyle*, ihre Lage symmetrisch nahe am Hinterende. Der etwas kleinere, rundliche Keimstock findet sich, wiederum wie bei den genannten Gattungen, nahe vor dem rechten Hoden auf der

Ventralseite (Fig. 7 A). Der Schalendrüsenkomplex liegt medianwärts von ihm ungefähr in der Mittellinie des Körpers; er ist wegen dessen Dicke niemals deutlich zu sehen, dagegen erscheint ventral unter ihm ein kleines Dotterreservoir, von dem die queren Dottergänge nach den Seiten ausstrahlen (Fig. 7 A). Die Dotterstöcke selbst liegen seitlich in der ventralen Körperhälfte und sind infolgedessen vom Rücken her nicht, oder nur in ihren äußersten Ausläufern sichtbar (Fig. 7 B). Sie bestehen aus relativ wenigen und großen Follikeln und reichen vom Vorderrande des Keimstockes bis zum Hinterende der Hoden. Dorsal vom Schalendrüsenkomplex und dicht unter der Rückenfläche (Fig. 6 B, C) erscheint ein großes kugeliges Receptaculum seminis, in dem die Samenfäden in der charakteristischen Weise radiär angeordnet liegen. Ein Laurerscher Kanal war nicht mit Sicherheit aufzufinden, dürfte aber vorhanden sein. Die Uterusschlingen erfüllen den gesamten verdickten Hinterkörper bis an den Vorderrand der Dotterstöcke und Keimdrüsen hin und lassen auf der Rückenseite nur Receptaculum seminis, Samenblase und die Enden der Darmschenkel frei. Die hellgelbbraunen, dünnschaligen Eier sind im Mittel 0,021 : 0,011 mm groß.

Daß das Genus *Pygidiopsis* den Heterophyiden zugehört und *Ascocotyle* besonders nahe steht, braucht kaum besonders erwähnt zu werden; seine hauptsächlichen unterscheidenden Merkmale liegen in der Körperform und der Gestaltung der Genitalendorgane.

Literatur.

1902 Braun, M., Fascioliden der Vögel. (Zool. Jahrb. Syst. Bd. XVI.)
1900 Braun, M., Trematoden der Chiroptera. (Ann. k. k. Hofmus. Wien. Bd. XV.)
1872 van Beneden, P. I. Les parasites des Chauve-souris de Belgique. (Mém. Acad. Belgique. Bd. XL.)
1899 Looss, A., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Trematodenfauna Aegyptens etc. (Zool. Jahrb. Syst. Bd. XII.)

Ueber das Verhalten der Präzipitate gegenüber der Fäulnis.

[Aus dem Königl. Hygienischen Institut zu Königsberg i. Pr.
Direktor: Professor Dr. R. Pfeiffer.]

Von Privatdozent Dr. **E. Friedberger**, Assistent am Institut.

Im letzten Sommer blieb eine Anzahl von Gefäßen, in denen ich verschiedene präzipitierende Sera von Kaninchen mit dem homologen Antigen angesetzt hatte, längere Zeit offen in meinem Arbeitszimmer stehen. Es ergab sich die auffällige Tatsache, daß trotz der zur Zeit hohen Außentemperatur diese Präzipitationsflüssigkeiten, obwohl sie ohne jede aseptischen Kautelen bereitet waren, auch nach Wochen keine Spur stinkender Fäulnis zeigten. Es trat auch dann kein Fäulnisgeruch ein, als nunmehr die Proben weiterhin wochenlang in den 37°-Schrank gestellt wurden. Das war um so auffallender, als es sich um stark eiweißhaltige Flüssigkeiten handelte, indem durchschnittlich 0,1 Antiserum pro Kubikcentimeter einer Antigenverdünnung von 1 : 100—500 zugesetzt war. Diese zufällige Beobachtung veranlaßte mich, weitere Untersuchungen über das Verhalten von Präzipitaten gegenüber der Fäulnis anzustellen.

Es wurden in zahlreichen Versuchsreihen den verschiedensten präzipitierenden Seris (Serum von Kaninchen, vorbehandelt mit Serum von Ziege, Mensch, Schwein, Rind, mit Eiklar etc., Serum von Ente, vorbehandelt mit Kaninchenserum) die homologen Antigene zugesetzt. In Kontrollversuchen wurden die gleichen Antigenverdünnungen mit einer entsprechenden Menge Normalserums der gleichen Tierspecies, welche das Präzipitin lieferte, versetzt. In der Regel wurde pro Kubikcentimeter eine Antigenverdünnung 1 : 200 ca. 0,1 präzipitierenden Serums resp. Normalserums benutzt.

Alle verwendeten Sera (auch die Antigene) waren durch halbstündiges Erwärmen auf 56° inaktiviert. Die Proben waren zwar mit steriler physiologischer Kochsalzlösung und in sterilen Gefäßen angesetzt, doch blieben sie nach der Bildung der Präzipitate zuerst ein bis mehrere Tage bei Zimmertemperatur dann im Brutschrank offen stehen. Die Mischungen, die mit Präzipitin resp. Normalserum bereitet wurden, befanden sich in gleich weiten Gefäßen, so daß also die Gelegenheit zur spontanen Fäulnis in beiden Fällen die gleich günstige war. Es ergab sich aber die auffallende Tatsache, daß in den Proben, in denen das Antigen mit dem wirksamen homologen „Antieiweißserum“ versetzt war, mit vereinzelten Ausnahmen keine stinkende Fäulnis eintrat, während die unter gleichen Bedingungen mit Normalserum angesetzten Kontrollproben bereits nach 2—3 Tagen deutlichen, nach 4—6 Tagen außerordentlich intensiven Fäulnisgestank zu erkennen gaben. Selbst bei der in einzelnen Fällen durch Monate hindurch fortgesetzten Beobachtung zeigten derartige Proben mit Präzipitin in der Regel keinen Fäulnisgeruch [1]).

Zuweilen allerdings trat mit der Zeit ein an Pepton erinnernder leicht aromatischer Geruch auf, doch niemals jener charakteristische Gestank, den die Proben mit Normalserum gewöhnlich in wenigen Tagen zeigten und mehr oder weniger intensiv durch die ganze Zeit der Beobachtung hindurch bewahrten. Ich beschränke mich darauf, einen der zahlreichen Versuche hier anzuführen.

17. Juli 1906. Je 20 ccm einer Verdünnung von inaktivem Normalziegenserum 1 :50 werden mit 3 ccm inaktivierten Serums eines mit Ziegenserum vorbehandelten Kaninchens (Versuch A) resp. mit der gleichen Menge inaktivierten Normalkaninchenserums (Versuch B) in zwei gleich weiten Reagenzgläsern von etwa 5 cm Durchmesser angesetzt. Nach 12 Stunden bei 37° ist im Versuch A ein mäßiges Präzipitat gebildet, in B ist die Flüssigkeit nur leicht opaleszent.

Beide Gläser bleiben 24 Stunden offen bei Zimmertemperatur stehen und werden dann über Wochen im Brutschrank, zuweilen auch einige Tage bei Zimmertemperatur, gehalten. Bereits am 19. Juli, also nach 2 Tagen, zeigte sich in B intensiver Gestank, der an den folgenden Tagen noch an Intensität zunahm. In A keine Spur von üblem Geruch. Erst gegen Ende Oktober trat ein leichter aromatischer Geruch auf. Stinkende Fäulnis ist bis heute nicht beobachtet. In ähnlicher Weise verliefen also, wie bereits erwähnt, eine ganze Reihe derartiger Versuche, die mit verschiedensten Immunseris angestellt waren. Nur bei einigen sehr schwach wirksamen Seris zeigte die Flüssigkeit mit dem Präzipitat nach einigen

1) Natürlich wurde bei der länger fortgesetzten Beobachtung die verdunstende Flüssigkeit sowohl im Haupt- wie im Kontrollversuch durch destilliertes Wasser stets wieder auf das ursprüngliche Volumen gebracht.

Wochen stinkende Fäulnis, während im Kontrollversuch auch hier, wie sonst, stets nach wenigen Tagen die Fäulnis begann.

Wenn man das Präzipitat durch Zentrifugieren von der oben stehenden Flüssigkeit trennte und Flüssigkeit und das in Kochsalzlösung wieder aufgeschwemmte Präzipitat getrennt beobachtete, so zeigte es sich, daß die Fäulnisresistenz des Präzipitats eine bedeutend höhere war. In den einzelnen Fällen, in denen schließlich die oben stehende Flüssigkeit doch stinkende Fäulnis zeigte, blieb das Präzipitat intakt.

Wurden die Mischungen von Präzipitin und Antigen mit geringen Mengen (1—2 Oesen) eines 1—2 Tage bei 37° gehaltenen intensiv stinkenden Fleischinfuses geimpft, so trat auch dann nur selten und erst nach längerer Zeit Fäulnisgeruch auf. Dagegen gelang es bei Verwendung größerer Mengen von Faulflüssigkeit natürlich entsprechend leichter, Fäulnis herbeizuführen. Auch bei diesen Versuchen zeigten die Präzipitate eine bedeutend höhere Resistenz.

Es lag zunächst die Annahme nahe, daß die aus der Luft in die Flüssigkeit gelangten Fäulnisbakterien im Moment der Präzipitation vernichtet worden waren, und daß auch die später aus der Luft in die offenen Gefäße gelangten resp. künstlich zugesetzten Keime nicht zur Entwickelung zu kommen vermochten. Dagegen aber spricht die Tatsache, daß in den Präzipitatflüssigkeiten zu allen Zeiten lebende Bakterien in großen Mengen mikroskopisch und kulturell nachgewiesen werden konnten. Sowohl qualitativ wie quantitativ bestand bei aërober und anaërober Züchtung kein Unterschied in der Bakterienflora der Präzipitatflüssigkeit und der Kontrolle, so daß auch der Einwand hinfällig wird, es wären in den Präzipitatflüssigkeiten gerade die das Eiweiß zersetzenden saprophytischen Bakterienarten nicht zur Entwickelung gelangt. Es wäre nun allerdings weiterhin möglich gewesen, daß zwar aus der Luft Fäulnisbakterien in die Flüssigkeit gelangten und hier zur Entwickelung kamen, daß sie aber unter dem Einfluß der Präzipitate in ihrer vitalen Leistungsfähigkeit so beeinflußt wurden, daß sie nunmehr das Eiweiß nicht mehr unter Bildung stinkender Abbauprodukte zu zersetzen vermochten. So unwahrscheinlich diese Annahme schon von vornherein ist, so spricht vor allem die Tatsache dagegen, daß die Verimpfung minimaler Flüssigkeitsmengen aus den Präzipitatversuchen in Bouillon genügte, um in kürzester Zeit hier stinkende Fäulnis zu erzeugen. Das gleiche Resultat ließ sich natürlich durch Einbringen größerer Bouillonmengen in die fäulnisresistente Präzipitatflüssigkeit erzielen.

Nach alledem kann die Ursache der Fäulnisresistenz in Präzipitatflüssigkeiten nicht in einem besonderen Verhalten der Fäulnisbakterien an sich beruhen, vielmehr lag die Annahme nahe, daß eine besondere Beschaffenheit der Präzipitate die Ursache dieser auffallenden Erscheinung sei. Wir dürfen vielleicht vermuten, daß das mit dem Präzipitin verankerte Eiweißmolekül den von den Bakterien gebildeten, die Fäulnis bedingenden Fermenten keinen Angriffspunkt mehr bietet. Sei es nun, daß der Eiweißkomplex eine derartige molekulare Umlagerung erfahren hat, daß er nicht mehr durch die Fermente des Bakteriums zerlegbar ist, sei es auch nur, daß diejenige Gruppe des Eiweißmoleküls, in welche das Ferment für gewöhnlich eingreift, nunmehr durch das Präzipitin verstopft ist.

Für letztere Annahme haben wir bereits Analoga in der Chemie und in der Immunitätslehre. So führen z. B. L. Schwarz und Pick die Resistenz des formalinisierten Eiweißes resp. der Präzipitate gegenüber der tryptischen und peptischen Verdauung darauf zurück, daß die

Gruppe des Eiweißmoleküls, in die für gewöhnlich das Ferment eingreift, hier durch das Formaldehyd- bezw. das Präzipitin besetzt ist. Die Richtigkeit dieser Vorstellung vorausgesetzt, mußte es durch Zerstörung des verankerten Präzipitins gelingen, den Niederschlag faulfähig zu machen.

Aus den Untersuchungen von Kraus und von Pirquet wissen wir, daß Erhitzung der Präzipitine auf 60° nur ihre fällende Gruppe, höhere Temperatur aber auch die bindende Gruppe zerstören. Es war deshalb zu versuchen, ob es durch Erhitzen gelingen würde, die Präzipitatflüssigkeit faulfähig zu machen. In einer Versuchsreihe ging ich folgendermaßen vor: 17. Okt. 1906. Es werden 400 ccm einer Verdünnung 1 : 100 inaktivierten Ziegenserums mit 40 ccm inaktivierten Serums eines mit Ziegenserum vorbehandelten Kaninchens versetzt. Der innerhalb 18 Stunden sich bildende reichliche Bodensatz wird abzentrifugiert und 3mal mit großen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Von der abzentrifugierten Flüssigkeit werden 200 ccm zu je 5 ccm in offene Reagenzgläser eingefüllt. Das gewaschene Präzipitat wird in 200 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und gleichfalls in Mengen von je 5 ccm abgefüllt. Es sedimentiert sich dann in kurzer Zeit ein reichliches Präzipitat von fast 0,3 cm Höhe. Sowohl von den Präzipitatserien wie auch von den Abgußflüssigkeiten wird die Hälfte aufgekocht und sowohl von den gekochten wie von den ungekochten Portionen wird je die Hälfte mit einer Oese eines 36 Stunden bei 37° gehaltenen intensiv stinkenden Fleischinfuses geimpft. Die Röhrchen kommen in den 37°-Schrank und werden wiederholt umgeschüttelt und auf den Eintritt der stinkenden Fäulnis untersucht. Nach 3 Tagen zeigt die aufgekochte und infizierte Quote der oberen Flüssigkeit ebenso wie die Proben, die mit Normalkaninchenserum angesetzt waren, intensiven Fäulnisgeruch. Nach 5 Tagen zeigten auch die mit der nicht infizierten gekochten Quote der abgegossenen Flüssigkeit beschickten Proben Fäulnisgestank (20 Röhrchen). Von den mit der ungekochten Quote der abgegossenen Flüssigkeit beschickten Röhrchen stinkt nach 14 Tagen erst eins, in diesem aber befand sich eine tote Fliege. Drei weitere Röhrchen zeigten einen leichten leimartigen Geruch. Im Verlaufe der nächsten Wochen begann allerdings in dieser Versuchsreihe auch der Abguß zu faulen. Dagegen zeigten die 40 mit dem in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Präzipitat gefüllten Röhrchen trotz des 9-wöchentlichen Aufenthalts im Brutschrank[1]) absolut keinen Geruch. Es zeigt sich also auch in diesem Falle wieder die höhere Fäulnisresistenz der Präzipitate gegenüber den Abgüssen. Auffallend ist, daß auch die gekochten Präzipitate ihre Resistenz gegenüber der Fäulnis so sehr bewahrten, daß selbst in den 10 mit Fäulnisbakterienflüssigkeit nachträglich geimpften Röhrchen die Zersetzung ausblieb. Die Erhitzung war, wie erwähnt, ja in der Voraussetzung vorgenommen worden, daß die verankerten Präzipitine bei Temperaturen von 100° zerstört würden, und daß nun die Präzipitatflüssigkeit der Fäulnis zugängig würden. Der Ausfall der Versuche scheint also zunächst gegen die Annahme zu sprechen, daß die Fäulnisresistenz auf eine Verstopfung der für die Bakterienfermente passenden Gruppen des Eiweißmoleküls durch das Präzipitin beruhen. Aber das Resultat dieses Versuchs ist doch keineswegs so eindeutig in diesem Sinne. Wir wissen zwar, daß Präzipitine in Lösung durch höhere Temperaturen zerstört

---

1) Anmerkung bei der Korrektur: Auch jetzt, in der 14. Woche, sind die Aufschwemmungen des Präzipitats noch geruchlos.

werden, andererseits hat aber bereits Eisenberg auf die Hitzebeständigkeit hingewiesen, die getrocknete Präzipitine in Analogie mit den Fermenten aufweisen. Es wäre nicht ausgeschlossen, daß das Präzipitin, einmal an das Eiweißmolekül gebunden, die Integrität seiner bindenden Gruppe auch bei einer Temperatur von 100° noch bewahrt, so daß in der Tat auch dann noch die Verstopfung der angreifbaren Gruppen des Eiweißmoleküls durch das Präzipitin bestehen bleibt. Dafür, daß immerhin doch eine gewisse Schädigung durch die Erhitzung statthat, spricht die außerordentlich schnelle Fäulnis der gekochten Quote des Abgusses im Vergleich zur ungekochten. Wir müssen annehmen, daß in den Abgüssen die relative Fäulnisresistenz gleichfalls auf einer teilweisen mehr oder minder ausgiebigen Bindung zwischen Präzipitin und Antigen beruht. In diesem Fall einer ungenügenden Absättigung wird natürlich die Schädigung durch die Erhitzung viel leichter genügen, um der Mischung wieder die normale Faulfähigkeit zu verleihen.

Fassen wir die Resultate kurz zusammen, so ergibt sich: 1) Präzipitate sind gegenüber der spontanen wie der künstlichen Fäulnis außerordentlich resistent, 2) auch der vom Präzipitat abgegossenen Flüssigkeit kommt eine relative, je nach den quantitativen Beziehungen zwischen Antigen und Antiserum mehr oder weniger ausgesprochene Fäulnisresistenz zu. 3) Diese Resistenz gegenüber der Fäulnis beruht nicht auf einem besonderen Verhalten der Bakterien, sondern hat ihre Ursache in der eigentümlichen Beschaffenheit des Präzipitats.

Immunisierungs- und serotherapeutische Versuche dem Morphium gegenüber.

Von Dr. **Georg v. Marikovszky**,
zur Zeit der Untersuchungen Assistent im Institut f. allg. Path. und Therapie in Budapest.

Mit 1 Temperaturkurve.

Es ist eine allbekannte Tatsache, daß man sich an das Morphium gewöhnen kann. Es sind ja in der Literatur Fälle erwähnt, wo Kranke pro dosi 3, ja sogar 5 g des Giftes vertrugen. Nach Faust[1]) wäre diese Tatsache entweder dadurch zu erklären, daß die Empfänglichkeit des Nervensystems dem Gifte gegenüber abnimmt, oder, daß sich die Fähigkeit des Organismus, das Gift durch Umsetzung unschädlich zu machen, steigert. Seiner Ansicht nach ist diese letztere Erklärung die wahrscheinlichere, da sich laut seinen Versuchen bei akut vergifteten Hunden etwa 70 Proz. des einverleibten Morphiums im Kote nachweisen lassen, während bei solchen Hunden, welche längere Zeit hindurch an Morphium gewöhnt wurden, bloß Spuren des Giftes in den Exkrementen nachzuweisen waren. In diesem letzteren Falle würde das Gift seiner Meinung nach durch solche Faktoren zersetzt, welche dem Organismus sonst höchstens in geringem Maße zur Verfügung stehen, durch die steigende Gewöhnung aber zur Erfüllung einer solchen Aufgabe fähig

1) Faust, Ueber die Ursachen der Gewöhnung an Morphium. (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1902.)

gemacht werden. Diese Auffassung sucht Faust auch mit jener Tatsache zu unterstützen, daß sowohl bei akuter, als bei chronischer Intoxikation mittelst Oxalsäure — einem Gifte, an deren Wirkung sich der Organismus überhaupt nicht gewöhnt — die ganze einverleibte Giftmenge ausgeschieden wird.

Gioffredi[1]) gibt im Jahre 1899 an, daß er bei mit Morphium behandelten Hunden eine der Immunität nahestehende Resisistenz erzielen konnte. Das Serum solcher vorbehandelten Hunde besitze sowohl präventive, wie auch kurative Eigenschaften. Behandelte er junge Katzen mit dem Serum solcher Hunde präventiv, so vertrugen die Katzen das $2^1/_2$-fache der sonst tödlichen minimalen Giftdosis, wobei die Wirkung des Serums keineswegs etwa auf die Anwesenheit des Oxydimorphins zurückzuführen war, da sich dieses Opiumderivat, wie er es angibt, dem Morphium gegenüber nur in geringem Maße antagonistisch verhält.

Hirschlaff[2]) stellte seine Versuche vorerst an Hunden, Pferden, Rindern und Katzen an, mußte aber dieselben später an Kaninchen fortsetzen, da die Hunde Erbrechen und Diarrhöe bekamen (was übrigens nach Faust und auch nach meinen eigenen Versuchen später nicht mehr vorkommt), die Pferde, Rinder und Katzen aber mit starken Excitationserscheinungen reagierten. Die Kaninchen behandelte Hirschlaff von 3 Wochen bis zu 5 Monaten ohne Unterbrechung, und steigerte die Dosis anfangs täglich um 0,015, später um 0,03 g. Die Anfangsdosis betrug 0,015, die Maximaldosis 0,51—1,20 g, wobei die Gesamtdosis des pro Tier verwendeten Giftes 4,59—63,61 g betrug. Während dieser Behandlung soll der Gesundheitszustand der Tiere nicht gelitten haben, ja sie nahmen sogar an Gewicht zu.

Da die für Kaninchen letale Dosis ziemlich schwankend ist, verwendete Hirschlaff bei seinen Versuchen, mittelst welchen er den Wert des derart gewonnenen Serums bestimmen wollte, späterhin Mäuse, für welche nach seinen Angaben 0,0045—0,007 g Morphium sicher totbringend ist. Aus seinen Versuchen folgert Hirschlaff, daß das Serum der gegen Morphium immunisierten Kaninchen die Mäuse gegen die 3—4-fache minimale letale und gegen die zweifache sonst sicher tötende Dosis des Giftes schützt.

Später stellte auch Morgenroth[3]) Immunisierungs- und serotherapeutische Versuche mit Morphium an und kam nach einer großen Versuchsreihe zu dem Schlusse, daß Hirschlaffs Resultate bloß Scheinresultate seien, da die Dosis certe efficax für Mäuse höher ist, als er es annahm. Nach Morgenroths Versuchen ist nämlich für eine 15 g schwere Maus erst 0,014 g Morphium sicher todbringend, ja, injiziert man den Mäusen vor der Vergiftung 0,8—1 ccm normales Kaninchenserum, so steigt die sicher tötende Dosis über 0,0165, ein Umstand, welchen Hirschlaff schon zu Gunsten seines Antimorphinserums schrieb. Nach Morgenroth bleibt es infolgedessen noch immer eine offene Frage, ob sich bei der Morphiumgewöhnung ein Antitoxin bildet, oder ob unter solchen Umständen, wie Faust meint, das Gift zerstört wird.

Auf Grund von Morgenroths Versuchen behauptet nun Ehrlich[4]) im Jahre 1903: „Der Satz, daß allen chemisch gut definierten Substanzen die Fähigkeit abgeht, Antitoxine zu erzeugen, besteht also noch heute voll und ganz zu Recht!“

Teils die große Bedeutung der Frage, teils der oben erwähnte, vielleicht etwas apodiktische Satz Ehrlichs haben mich nun dazu bewogen, zu versuchen, ob auf diesem Gebiete wirklich nichts zu machen wäre. Es ist z. B. jedenfalls bedenkenswert, was Meier[5]) bei der Veröffentlichung seiner Strychninversuche sagt. Er hält es nämlich für eigentümlich, daß wir bloß dann von einer Immunität sprechen, wenn es sich um eine Toleranz den Bakteriengiften gegenüber handelt, sofort aber das Wort „Gewöhnung“ gebrauchen, sobald die Toleranz z. B. einem Alkaloid gegenüber manifest wird, trotzdem die zwei Begriffe eigentlich identisch sind.

---

1) Gioffredi, L'immunité artéficielle par les alcaloides. (Arch. ital. de biol. 1897 u. Recherches sur l'immunisation pour la morphine. Ibid. 1899.)

2) Hirschlaff, Ein Heilserum zur Bekämpfung der Morphiumvergiftung und ähnlicher Intoxikationen. (Berl. klin. Wochenschr. 1902.)

3) Morgenroth, Zur Frage des Antimorphinserums. (Berl. Klin. Wochenschrift. 1903.)

4) Ehrlich, Toxin und Antitoxin. (Münch. med. Wochenschr. 1903.)

5) Meier, Immunisierungsversuche gegen Strychnin. (Berl. klin. Wochenschrift. 1905.)

Meine Versuche habe ich natürlich damit begonnen, daß ich die für die Maus sicher tötende Morphiumdosis zu bestimmen suchte. Nach den Versuchen Hirschlaffs und Morgenroths konnte ich mit einem gewissen Recht annehmen, daß 0,02 g Morphium die Maus sicher tötet. Eher um der Formalität genug zu tun, als der Kontrolle halber injizierte ich nun einer weißen Maus 0,02 g Morphium unter die Haut und nahm zu meinem großen Erstaunen wahr, daß die Maus am Leben blieb, ja nicht einmal Krämpfe bekam, und sich in ungefähr 1 Stunde vollkommen erholte. Meiner Meinung nach beweist nun schon dieser einzige Fall, daß sowohl Hirschlaff, wie auch Morgenroth eine zu kleine Dosis als certe efficax annahmen.

Am selben Tage injizierte ich 3 Mäusen zuerst präventiv normales Kaninchenserum, und nachher je 0,03 g Morphium unter die Haut. Eine vierte Maus bekam bloß 0,03 g Morphium. In 1—6 Stunden gingen zwar alle Mäuse ein, zweie jedoch von jenen, welche mit normalem Serum vorbehandelt waren, früher, als jene, welche bloß Morphium bekam. Man kann also nicht behaupten, daß das normale Kaninchenserum auf die Toleranz dem Morphium gegenüber irgend einen günstigen Einfluß ausübt, sonst wären die mit dem Serum vorbehandelten Mäuse zum mindesten länger am Leben geblieben als jene, welche bloß Morphium bekam.

Die Mäuse reagierten auf die Injektion von normalem Kaninchenserum ziemlich stark. Ferner, injiziert man einer z. B. 12 g schweren Maus 1 ccm Flüssigkeit (Serum und Morphiumlösung) unter die Haut, so ist dies dasselbe, als wenn ich einem 60 kg schweren Menschen 5 l Flüssigkeit unter die Haut injizieren würde, also eine Quantität, welche schon wegen ihrer Größe unmöglich indifferent sein kann. In Anbetracht dieser beiden Umstände benutzte ich in den folgenden Versuchen anstatt den Mäusen Meerschweinchen.

Es ist zwar allbekannt, daß die Meerschweinchen das Morphium gut vertragen, da mir aber diesbezüglich keine Daten zur Verfügung standen, mußte ich die Reihe meiner eigentlichen Versuche mit der Bestimmung der Dosis certe efficax beginnen. Zu diesem Zwecke gab ich 28 Meerschweinchen verschiedene Dosen Morphium und stellte hierbei fest, daß die minimale letale Dosis auf 100 g Körpergewicht 0,0533 g beträgt, und daß 7 cg Morphium 100 g Meerschweinchen in 3—5 Stunden sicher tötet. In Anbetracht der ziemlich großen Zahl meiner diesbezüglich gepflogenen Versuche glaube ich nun bei der Wertbestimmung des später hergestellten Serums als positiv annehmen zu dürfen, daß 70 cg Morphium pro Kilo Meerschweinchen sicher todbringend ist.

Die zweite Reihe meiner Versuche bildeten die Immunisierungsversuche, welche ich an Kaninchen und Hunden vornahm.

Bei den Kaninchen habe ich anfangs die bis nun gebräuchliche Methode angewendet, indem ich den Tieren steigend mehr und mehr Morphium unter die Haut injizierte. Von dem gewöhnlichen Verfahren bin ich nur insofern abgewichen, daß ich die Injektion nicht täglich, sondern bloß jeden dritten Tag vollzog, da es nach meinen Erfahrungen diesen Zeitraum bedurfte, bis sich das Tier nach jeder Injektion erholt hat. Eine kumulative Wirkung mußte ich natürlich vermeiden. Es ist nämlich anfangs des öfteren vorgekommen, daß das Kaninchen eine gewisse Menge Morphium ohne Schaden vertrug, um am anderen Tage nach derselben Dosis einzugehen.

Mit den Resultaten der derart gepflogenen Versuche war ich überhaupt nicht zufrieden. Es gingen nämlich sämtliche Kaninchen unter

den exquisiten Erscheinungen einer Intoxikation ein, noch bevor ich einen nennenswerten Erfolg erzielen konnte, trotzdem ich bei der Steigerung der Dosis sehr behutsam vorging und trotzdem ich bei einigen Kaninchen auch ein rascheres Tempo versuchte. Die Sektion bestätigte die Diagnose der Intoxikation immer.

Ich will auf die Schilderung der Details dieser Versuche nicht näher eingehen und werde hier nur die erzielten Resultate erwähnen.

Falls ich nur jene Dosen in Rechenschaft ziehe, welche das Kaninchen noch überlebte, so kann ich folgende durchschnittliche Resultate mitteilen:

Die Behandlung dieser Kaninchen dauerte durchschnittlich 43,28 Tage, während welchen die Tiere im Durchschnitt 400 g ihres Körpergewichtes verloren haben. Wenn ich diesen Gewichtsverlust mit der Anzahl der Behandlungstage dividiere, so stellt es sich heraus, daß auf einen Tag ein durchschnittlicher Gewichtsverlust von 11,75 g fällt. Im ganzen bekam ein Kaninchen durchschnittlich 238 cg Morphium, von welchem Quantum 6,02 cg auf einen Tag fällt. Pro dosi minima bekamen diese Tiere durchschnittlich 4,67 cg, pro dosi maxima 36,85 cg. Auf 1000 g Körpergewicht umgerechnet betrug die Dosis minima durchschnittlich 2,85, die Dosis maxima 32,02 cg.

Wenn wir zu diesen Daten und Dosen auch jene hinzurechnen, nach welchen Dosen die Tiere* bereits eingingen, so gestaltet sich der obige Ausweis folgendermaßen:

Behandlungsdauer durchschnittlich 47,14 Tage. Gesamter Verlust an Körpergewicht 407,14 g. Auf einen Behandlungstag entfallender Verlust an Körpergewicht 10,13 g. Im ganzen bekam je ein Kaninchen durchschnittlich 276,28 cg Morphium, von welchem Quantum 6,44 cg auf einen Tag entfällt. Pro dosi minima bekamen die Tiere durchschnittlich 4,67 cg, pro dosi maxima 40,57 cg. Auf 1000 g Körpergewicht umgerechnet betrug die Dosis minima durchschnittlich 2,88, die Dosis maxima 35,51 cg.

Aus diesen Daten ist nun meiner Ansicht nach ersichtlich, daß:

1) Die progressive Behandlung mit Morphium für die Kaninchen nicht unschädlich ist, sonst würden sie keineswegs so viel von ihrem Körpergewichte einbüßen. Diesbezüglich kann ich also mit Hirschlaff nicht der gleichen Meinung sein.

2) Mit diesem langen, und behutsam vorgenommenen Verfahren konnte ich durchschnittlich höchstens so viel erzielen, daß das Kilo Kaninchen eine Gabe von 32,02 cg Morphium ohne Schaden vertrug, von einer durchschnittlichen Dosis von 35,51 cg gingen die Tiere bereits ein. Nach den Angaben von A. Joffroy und A. Serveaux[1]) soll pro Kilo Kaninchen, intravenös appliziert, 0,30, intramuskulär 0,36 g Morphium als Dosis letalis minima betrachtet werden. Die Dosis letalis des subkutan injizierten Morphiums soll zwischen 0,30 und 0,36 gesucht werden. Obzwar ich nun die Daten dieser Autoren als viel zu hoch betrachten muß (worauf ich später noch zurückkehre), so liegt es doch auf der Hand, daß man kaum etwas von dem Serum eines solchen Kaninchens erwarten kann, welches pro Kilo Körpergewicht bloß 32,02 cg Morphium verträgt.

Zum Beweis einerseits dessen, wie wenig die gewöhnliche, nebenbei ziemlich langwierige Immunisierungsmethode hier brauchbar ist, anderer-

1) Joffroy-Serveaux, L'équivalent toxique de la morphine. (Arch. de méd. expér. T. X. 1898.)

seits dessen, daß ich die Angaben von Joffroy und Serveaux bezüglich der minimalen letalen Dosis mit Recht für zu hoch halte, will ich erwähnen, daß z. B. eines meiner Kaninchen nach einer 3-monatlichen Behandlung von einer Dosis von 9,69 cg auf 1000 g Körpergewicht gerechnet nach 4 Stunden, ein anderes nach einer 45-tägigen Behandlung von einer Dosis von 11,85 cg pro Kilo ebenfalls nach einigen Stunden einging.

Da ich nun einsah, daß man mit diesem Verfahren nicht weit kommt, mußte ich mich um eine andere Methode umsehen.

Als Calmette sein Serum gegen Schlangengift bereitete, konnte er bekanntlich auf verschiedenen Wegen Resultate erzielen. Eine seiner Methoden bestand darin, daß er unter die Haut des zu immunisierenden Tieres schon bei der ersten Gelegenheit die sonst tödliche Dosis des Giftes injizierte, dazu aber bei jeder Gelegenheit weniger, das Gift zerstörende chemische Substanzen mischte.

Ich versuchte nun bei meinen Versuchen dieses Prinzip anzuwenden. Ich injizierte den Kaninchen schon am ersten Tag die tödliche, ja, die tödliche überschreitende Dosis Morphium, und indem ich die Morphiumdosis nicht mehr änderte, oder von Fall zu Fall vergrößerte, mischte ich zur Morphiumlösung langsam abnehmend immer weniger einer Kalium hypermanganicum-Lösung.

Es ist möglich, ja sogar wahrscheinlich, daß das Kalium hypermanganicum einen Teil des Morphiums zerstörte, und daß das Verfahren infolgedessen vom alten eigentlich gar nicht verschieden war, da das Tier eigentlich auch hier immer mehr Morphium bekam, weil ich ja, wie gesagt, zur Morphiumlösung absteigend Fall zu Fall weniger Kalium hypermanganicum-Lösung hinzumischte. Wie dem auch sei, das Resultat rechtfertigte dieses Verfahren, indem ich hier in einer viel kürzeren Zeit viel mehr erreichen konnte, wie mit der einfachen Methode. Das Kaninchen vertrug nämlich am letzten Tage der Behandlung, ganz ohne Kalium hypermanganicum eine so große Dosis Morphium, zu welcher Dosis ich mit der alten Methode selbst in einer viel längeren Zeit nicht gelangen konnte.

Es tauchte auch der Gedanke auf, ob nicht die wiederholte Gabe des Kalium hypermanganicum die Toleranz des Tieres dem Morphium gegenüber erhöht hat. Meine diesbezüglich gepflogenen Kontrollversuche endeten mit einem negativen Erfolg. Jene Kaninchen nämlich, welche im gewohnten Zeitraum bloß die gebräuchliche Kalium hypermanganicum-Menge bekamen ohne Morphium,. gingen nach der Behandlung von derselben Dosis Morphium ein, wie die unbehandelten Tiere.

Meine Immunisierungsversuche mit Morphium und Kalium hypermanganicum habe ich bei zwei Gruppen von Kaninchen versucht. Um die an der ersten Gruppe erzielten Resultate zu schildern, will ich folgende durchschnittliche Daten angeben:

Wenn wir jene Daten und Dosen in Betracht ziehen, nach welchen Dosen die Tiere noch am Leben blieben, so kommen wir zu folgenden durchschnittlichen Daten: 1) Behandlungsdauer 16,54 Tage; 2) Verlust an Körpergewicht 82,72 g; 3) auf einen Tag entfallender Verlust an Körpergewicht 5,51 g; 4) die einem Kaninchen verabreichte gesamte Morphiummenge betrug durchschnittlich 339,81 cg, von welcher Menge auf einen Behandlungstag 21,87 cg entfällt; 5) pro dosi bekamen diese Kaninchen zum mindesten 51,00 cg, die Dosis maxima betrug 68,36 cg; 6) pro Kilo Kaninchen gerechnet war die Dosis minima durch-

schnittlich 35,606, die Dosis maxima 49,19 cg. Ich muß hier noch bemerken, daß ein Teil der so behandelten Kaninchen während der Behandlung nicht nur nicht abmagerte, sondern an Gewicht sogar zunahm.

Wenn wir auch jene Dosen in Betracht ziehen, nach welchen das Tier eventuell verendete, oder demselben behufs Serumgewinnung das Blut entnommen wurde, so gestalten sich obige Daten folgendermaßen:

1) Behandlungsdauer durchschnittlich 19,81 Tage; 2) der gesamte Verlust an Körpergewicht beträgt 109,09 g; 3) der auf einen Behandlungstag entfallende Verlust an Körpergewicht beträgt 6,51 g; 4) je ein Kaninchen bekam im ganzen durchschnittlich 396,63 cg Morphium, von welcher Menge auf einen Behandlungstag 20,47 cg entfällt; 5) pro dosi bekamen diese Kaninchen wenigsten 51 cg, die Dosis maxima betrug 74,18 cg; 6) auf 1 kg Kaninchen umgerechnet war die Dosis minima durchschnittlich 35,606, die Dosis maxima 53,24.

Wenn wir nun die mit der gewöhnlichen Methode erzielten Resultate mit jenen vergleichen, welche sich mit der neueren erzielen lassen, so ist der Unterschied jedenfalls nennenswert. Ich will besonders auf folgende Tatsachen hinweisen:

1) Der Verlust an Körpergewicht der mit der modifizierten Methode behandelten Kaninchen ist sehr bedeutend kleiner, als der bei der gewöhnlichen Immunisierungsmethode beobachtete. Man könnte hier nun einwenden, daß ja die neuere Methode eine viel kürzere Zeit beansprucht als die gewöhnliche, und daß dementsprechend das Tier auch weniger seines Körpergewichtes einbüßen kann. Eben diesen Punkt zu erläutern, habe ich oben auch den, auf einen Tag entfallenden Verlust an Körpergewicht ausgerechnet, wobei man sieht, daß die nach der modifizierten Methode behandelten Kaninchen pro Behandlungstag um die Hälfte weniger ihres Gewichtes einbüßen, als die mit der gewöhnlichen Methode behandelten.

2) Wenn wir die erzielten Resultate und die relativ kurze Behandlungsdauer betrachten, so wird es jedenfalls auffallen, daß man mit der modifizierten Methode in einer viel kürzeren Zeit viel mehr erzielen kann, wie mit der früher gebrauchten. Obzwar diese meine Behauptung vielleicht auch schon aus den oben angegebenen Daten ersichtlich ist, will ich, da obige Daten Durchschnittszahlen sind, noch folgendes erwähnen: Mit der früher gebrauchten Methode konnte ich bloß bei einem einzigen Kaninchen erreichen, daß es pro 1 kg Körpergewicht 0,60 g Morphium vertrug, und dieses Resultat konnte ich auch nur nach einer 47-tägigen Behandlung erzielen. Mit der modifizierten Methode hingegen konnte ich schon bei dieser ersten Gruppe meiner immunisierten Kaninchen bei vielen das erreichen, daß sie nach einer Behandlungsdauer von 19 Tagen auf das Kilo 0,656 g reines Morphium vertrugen.

3) Aus den oben angegebenen Daten sieht man, daß die, auf einen Tag entfallende Morphiumdosis bei meinem Verfahren viel größer ist, als bei dem früher gebrauchten. Auf diesen Punkt will ich aber kein besonderes Gewicht legen, da es, wie bereits erwähnt, wahrscheinlich ist, daß infolge des Zusatzes von Kalium hypermanganicum bloß ein Teil des während der Behandlung einverleibten Morphiums unverändert blieb.

4) Selbst wenn der, im 3. Punkt erwähnte Einwand stichhaltig wäre, ist es einwandfrei, daß ich mit der modifizierten Methode viel weiter kam, wie mit der früher gebrauchten, da das nach meiner Methode behandelte Kaninchen nach einer Behandlung von durchschnittlich 19,81 Tagen eine durchschnittliche Dosis von 53,24 cg pro 1 kg vertrug,

während das nach der alten Methode behandelte nach einer Behandlung von durchschnittlich 47,14 Tagen nach 35,51 cg Morphium einging. Mit der modifizierten Methode kam ich also einem wertvollen Serum viel näher, als mit der früher gebrauchten.

Die Meinungen stehen so ziemlich in Einklang darüber, daß Tiere, welche einem Gifte gegenüber von Haus aus tolerant sind, sich nicht dazu eignen, um nach der Immunisierung aus ihnen ein wertvolles Serum zu erhalten. Obzwar ich die Kaninchen dem Morphium, resp. den wiederholten Gaben desselben gegenüber bei weitem nicht für so hochgradig immun halten kann wie dies im allgemeinen geschieht, so habe ich es trotzdem versucht, auch Hunde dem Morphium gegenüber zu immunisieren. Bei der Immunisierung der Hunde habe ich vorderhand bloß die gewöhnliche Methode angewendet, indem ich stets steigende Dosen des Morphiums injizierte. Ich wußte nämlich nicht, wieviel Morphium ich dem Hunde bei der ersten Gelegenheit mit Kalium hypermanganicum gemischt injizieren kann. Um dies zu erfahren, hätte ich mehrere Hunde opfern müssen, diese standen mir aber nur in beschränkter Anzahl zur Verfügung.

Nach den Daten von Joffroy und Serveaux soll intravenös verabreicht 22, intramuskulär 26 cg Morphium als die Dosis letalis minima pro Kilo für den Hund gelten. Bei der subkutanen Einverleibung wäre die Dosis letalis minima zwischen diesen beiden Daten zu suchen, würde also ungefähr 24 cg ausmachen. Nach meinen Erfahrungen sind aber diese Dosen viel zu hoch gegriffen. Bei einem Hunde habe ich nämlich die Behandlung mit 2 cg Morphium begonnen (0,23 cg pro Kilo) und habe diese Dosis, da ich mich auf die Daten von Joffroy und Serveaux verlassen habe, in einem recht raschen Tempo erhöht, indem ich jeden dritten Tag anfangs um 2, später um 4 cg mehr verabreichte. Der Hund wurde 91 Tage lang behandelt und bekam in diesem Zeitraum insgesamt 10,60 g Morphium, von welchem Quantum auf einen Tag 11,91 cg entfallen. Oberflächlich betrachtet wäre ja dieses Resultat so ziemlich gut, wir müssen aber auch folgende Umstände in Rechnung ziehen: 1) der Hund reagierte auf die Injektion bis zum letzten Tag mit Erbrechen, Diarrhöe, Salivation und Dyspnöe; 2) er verlor von seinem Gewicht von 8400 g während dieser Zeit 1350 g; 3) der Hund bekam am 91. Behandlungstag zwar 84 cg Morphium auf einmal, davon entfielen aber auf 1 kg bloß 11,91 cg und der Hund ging an den Erscheinungen einer akuten Intoxikation in 5 Stunden doch ein. Die Sektion bewies es auch, daß es sich hier um eine Intoxikation gehandelt hat. Wenn nun ein Hund nach einer 91-tägigen Behandlung von einer Dosis von 11,91 cg auf das Kilo gerechnet eingeht, so halte ich die Daten von Joffroy und Serveaux meiner Meinung nach mit Recht für zu hoch.

Ein anderer, 8050 g schwerer Hund wurde 67 Tage hindurch behandelt. Derselbe bekam während dieser Zeit zwar insgesamt 976 cg Morphium, von diesem Quantum entfiel aber am letzten Tage der Behandlung auf 1 kg Körpergewicht des Hundes bloß 13,91 cg und der Hund magerte während dieser Zeit trotzdem so stark ab (er verlor ungefähr 30 Proz. seines Gewichtes), daß ich die Behandlung vorderhand einstellen mußte. Nach 2 Monaten erholte sich der Hund derart, daß ich die Behandlung wieder fortsetzen konnte; nun habe ich mit der Injektion von 40 cg Morphium begonnen, von welcher Dosis damals 5,36 cg auf 1 kg Körpergewicht entfielen. Diese Dosis habe ich jeden dritten Tag mit 10, später mit 20 cg erhöht und erreichte damit, daß der Hund bei-

läufig nach 1 Monat schon 160 cg Morphium auf einmal vertrug, von welchem Quantum damals auf 1 kg 21,68 cg entfielen. Da der Hund insgesamt ungefähr 6 Monate lang behandelt wurde, und in der letzten Zeit beständig 160 cg Morphium pro dosi erhielt, glaube ich denselben mit Recht als Morphinisten betrachten zu können. Ueber sein späteres Schicksal soll bei der Beschreibung der serotherapeutischen Versuche berichtet werden.

Bei einem 3. Hunde ging ich in einem sehr raschen Tempo vorwärts. Der Hund bekam nämlich gleich am 1. Tag 40 cg Morphium, und diese Dosis wurde anfangs um 10, später um 20 cg erhöht, so daß er am 38. Tage der Behandlung schon 160 cg pro dosi erhielt, nach welchem Quantum er aber in 3 Stunden eingegangen ist. Der Hund verlor während dieser Zeit von seinem ursprünglichen Gewicht von 6350 g bereits 1450 g und bekam insgesamt 9,10 g Morphium einverleibt.

Beim vierten Hunde habe ich die Dosis viel behutsamer erhöht. Die Immunisation — ich glaube dieses Wort mit Recht anstatt Gewöhnung anzuwenden — habe ich hier in drei Cyklen vollzogen.

Im ersten Cyklus habe ich dem Hunde am 1. Tage bloß 2 cg Morphium injiziert und erhöhte die Dosis langsam, so daß der Hnd nach einer Behandlung von 263 Tagen bloß 44 cg des Giftes pro dosi erhielt, wovon auf 1 kg Körpergewicht bloß 5,17 cg entfielen. Der Verlust an Gewicht war unter solchen Umständen gering, obzwar das Tier während dieser Zeit insgesamt 670 cg Morphium erhielt. Nennenswert war in diesem Cyklus, daß das Tier nach 205 Tagen der Behandlung auf die Injektion von Morphium nicht mit Erbrechen, Salivation und Diarrhöe reagierte.

Zu dieser Zeit habe ich die Behandlung wegen Uebersiedelung des Institutes und wegen anderen Umständen vorderhand einstellen müssen und konnte dieselbe nur nach ungefähr 7 Monaten fortsetzen. Den neuen Cyklus habe ich wieder mit der Injektion von 2 cg Morphium begonnen, habe aber diese Dosis in einem rascheren Tempo erhöht, in der Voraussetzung, daß der Einfluß des ersten Cyklus auf die Toleranz des Hundes während der 7 Monate nicht ganz verschwunden ist. Das Resultat bestätigte nun meine Voraussetzung. Die Dosis habe ich nämlich bei diesem Hunde in diesem Cyklus in einem eben so raschen Tempo erhöht, wie bei den ersten zwei Hunden, und während dieselben eingingen, habe ich bei diesem ein recht schönes Resultat erzielt, indem er nach einer Behandlung von 194 Tagen pro dosi 2,16 g, auf das Kilo Körpergewicht gerechnet 24 cg ohne jegliche Reaktion vertrug.

Teils weil diese Dosis auch jene von Joffroy und Serveaux erreichte, teils weil der Hund in diesem zweiten Cyklus insgesamt 57,15 g Morphium einverleibt bekam, hauptsächlich aber, weil ich durch eine noch weitere Erhöhung der Gaben das schon erzielte Resultat nicht riskieren wollte, habe ich nun dem Tiere zwecks serotherapeutischer Versuche genügendes Blut entnommen und stellte die Behandlung bis zur vollkommenen Erholung des Tieres ein. Den dritten Cyklus habe ich nun mit der Injektion von 40 cg Morphium begonnen, und kam im Laufe eines Monats so weit, daß der Hund zwar abmagerte und auf seinem Körper vom dauernden Liegen sich Decubituse bildeten, pro dosi 160, pro Kilo Körpergewicht 23,70 cg Morphium vertrug. Da der Hund insgesammt 435 Tage lang behandelt wurde und während den drei Cyklen 78,75 g Morphium einverleibt bekam (in der letzteren Zeit bei jeder

Gelegenheit 160 cg), glaube ich den Hund auch mit Recht für einen Morphinisten zu halten und werde über sein Schicksal später bei der Schilderung der serotherapeutischen Versuche dem chronischen Morphinismus gegenüber berichten.

Den dritten Teil meiner diesbezüglich gepflogenen älteren Versuche bildeten die serotherapeutischen Versuche beim akuten Morphinismus.

Bevor ich die hier erzielten Resultate schildere, will ich noch einmal erwähnen, daß 7 cg Morphium 100 g Meerschweinchen höchstens in 5 Stunden sicher töten. Der größte Teil der mit dieser Dosis vergifteten Meerschweinchen ging zwar in 3 Stunden ein, da ich aber bloß Tatsachen schildern, nicht aber um jeden Preis das beweisen will, daß mein Serum etwas wert ist, so muß ich doch erwähnen, daß ein einziges Meerschweinchen erst nach 4 Stunden und 57 Minuten, also in ungefähr 5 Stunden nach der Injektion eingegangen ist. Wegen diesem einzigen Meerschweinchen behaupte ich, daß 7 cg Morphium 100 g des Meerschweinchens in 3—5 Stunden töten.

Nach allem dem will ich nun die serotherapeutischen Versuche schildern, wobei ich noch bemerken muß, daß gleichzeitig immer auch Kontrollversuche angestellt wurden, um dem Einwand vorzubeugen, daß etwa die gebrauchte Morphiumlösung minder wirksam war.

1) Gewicht des Meerschweinchens 550 g. Es bekommt 4 Uhr 20 Minuten nachmittags 55 cg Morphium mit 1 ccm eines solchen Serums vermischt, welches vom immunisierten Kaninchen No. 171 stammte. Dieses Kaninchen wurde mit meiner modifizierten Methode behandelt und bekam in 21 Tagen 260 cg Morphium, von welchem Quantum am letzten Tag auf 1 kg Körpergewicht 40 cg entfielen. Das Kaninchen kann also nicht als besonders stark immunisiert betrachtet werden. Obzwar nun das Meerschweinchen No. 1 auf 100 g seines Gewichtes 10 cg Morphium (mit Serum vermischt) bekam, war es abends um 9 Uhr, also 4 Stunden und 40 Minuten nach der Injektion noch am Leben. In Anbetracht dessen, daß das Kontrolltier, welches ohne Serum ebenfalls 10 cg Morphium auf 100 g seines Körpergewichtes erhielt, in 2 Stunden und 20 Minuten einging, liegt es — glaube ich — auf der Hand, daß 1 ccm Serum das Leben des Meerschweinchens verlängert hat, selbst wenn wir annehmen, daß es abends um 9 Uhr, als ich vom Institute heimging, sofort eingegangen ist. Diese Annahme ist aber nicht wahrscheinlich, ja sogar unmöglich, da ich das Tier in der Frühe zwar nicht mehr am Leben, aber noch so warm fand, daß ich mich eine Zeitlang mit einer gewissen Hoffnung damit bemühte, das Tier durch künstliches Atmen wieder zum Bewußtsein zu bringen.

2) Gewicht des Meerschweinchens 430 g. Es bekommt 50 cg Morphium mit 4 ccm Serum vermischt injiziert. Das Serum entstammte dem oben erwähnten Kaninchen No. 171, stand aber seit dem ersten serotherapeutischen Versuch (5 Tage hindurch) am Eis, war also nicht mehr ganz frisch. Obzwar das Meerschweinchen nun auf 100 g seines Körpergewichtes je 11,62 cg Morphium erhielt, ging es erst 4 Stunden und 35 Minuten nach der Injektion ein und überlebte somit das Kontrolltier, welches in 2 Stunden und 15 Minuten verendete, um 2 Stunden und 25 Minuten.

3) Gewicht des Meerschweinchens 550 g. Es bekommt 50 cg Morphium vermischt mit 2 ccm des vom Kaninchen No. 171 stammenden Serums, welches, wie im Versuch 2, ebenfalls schon seit 5 Tagen am

Eise lag. Das Kontrolltier verendete in 3 Stunden, das Versuchstier erst in 6 Stunden 10 Minuten.

Die serotherapeutischen Versuche mit den Meerschweinchen No. 4, 5, 6 und 7 habe ich an einem Tage vollzogen. Dreie der Kontrolltiere gingen in 3 Stunden, das vierte in 4 Stunden und 57 Minuten ein. Das gebrauchte Serum entstammte den Kaninchen No. 195 und 197. Beide wurden nach meiner modifizierten Methode behandelt. Das Kaninchen No. 195 vertrug am 22. Tag der Behandlung 59,25 cg, das Kaninchen No. 197 63,33 cg reines Morphium pro Kilo Körpergewicht. Am 23. Tag wurde beiden das Blut entnommen und das sich bildende Serum nun gemischt gebraucht. Das Resultat der Versuche war folgendes:

4) Gewicht des Meerschweinchens 700 g. Es bekommt 50 cg Morphium, von welchem Quantum auf 100 g 7,14 cg entfallen. Sofort danach wird dem Tiere 10 ccm des oben erwähnten Serums injiziert. Das Tier überlebt die Vergiftung um 8 Stunden. In Anbetracht der Lebensdauer der Kontrolltiere ist dies schon an und für sich als ein Resultat zu betrachten, außerdem müssen wir aber auch den Umstand in Rechenschaft ziehen, daß die Menge des einverleibten Serums vielleicht zu groß war. Es ist ja allbekannt, daß über ein gewisses Quantum hinaus das Serum eher schadet als nützt.

5) Gewicht 520 g. Das Meerschweinchen erhält 37 cg Morphium, von welchem Quantum auf 100 g Gewicht 7,38 cg entfallen. Sofort danach erhält das Tier 8 ccm des erwähnten Serums. 8 Tage nach der Injektion abortierte das Tier und ging am neunten ein. Das Verenden kann in Anbetracht des großen Zeitraumes nicht mehr dem Morphium zugeschrieben werden, um so weniger, da die Sektion auch keine Intoxikationszeichen nachwies.

6) Gewicht des Meerschweinchens 470 g. Es erhält 33 cg Morphium (auf 100 g Körpergewicht 7,02 cg) und gleich darauf 6 ccm des erwähnten Serums. 3 Monate später war das Tier noch am Leben und wurde damals zu andersartigen Versuchen verwendet.

7) Gewicht 550 g. Das Tier erhält 40 cg Morphium (auf 100 g des Körpergewichtes gerechnet 7,27 cg) und gleich darauf 2 ccm des erwähnten Serums. 3 Monate später war das Tier noch am Leben.

Mit dem Serum der Kaninchen No. 195 und 197 habe ich nach 3 Tagen, obzwar das Serum schon etwas trüb geworden war, noch folgende Versuche angestellt:

8) Das Meerschweinchen erhält auf 100 g seines Körpergewichtes 7,01 cg Morphium und nach einer halben Stunde 5 ccm des oben erwähnten Serums. Das Kontrolltier verendete in 3 Stunden, das Versuchstier erst in 5 Stunden und 20 Minuten.

9) Dem Meerschweinchen wird auf je 100 g seines Körpergewichtes 7,2 cg Morphium und nach einer halben Sttunde 5 ccm Serum eingespritzt. Es überlebte das Kontrolltier um 2 Stunden und 8 Minuten.

Das Serum hat also das Leben der Meerschweinchen No. 8 und 9 um je 2 Stunden verlängert. Freilich ist das nicht besonders viel, aber meiner Meinung nach jedenfalls von Bedeutung, da das nicht mehr tadellose Serum den Tieren erst eine halbe Stunde nach dem Gifte einverleibt wurde.

Die an den Meerschweinchen No. 10, 11, 12 und 13 gepflogenen serotherapeutischen Versuche habe ich mit dem, aus jenem Hunde stammenden Serum vollzogen, welcher, wie oben erwähnt, 435 Tage behandelt wurde und während dessen 78,75 g Morphium einverleibt bekam.

Die hier verwendeten Kontrolltiere gingen durchschnittlich in 3 Stunden ein, jenes, welches am längsten am Leben blieb, überlebte die Vergiftung um 3 Stunden und 20 Minuten. Die Resultate der serotherapeutischen Versuche waren folgende:

10) Das Meerschweinchen bekommt auf je 100 g Körpergewicht 7,61 cg Morphium injiziert, und 13 Minuten später 10 ccm Hundeserum. Exitus nach 5 Stunden und 23 Minuten. Obzwar nun das Tier erst fast nach einer Viertelstunde nach dem Gifte das Serum bekam, so überlebte es mit mehr als 2 Stunden selbst jenes Kontrolltier, welches unter diesen am längsten am Leben blieb. Da unter den, mit dem Hundeserum behandelten Meerschweinchen eben dieses in der kürzesten Zeit eingegangen ist, taucht wiederum der Gedanke auf, daß 10 ccm Serum für ein Meerschweinchen zu viel sind.

11) Das Tier bekommt auf je 100 g 8,42 cg Morphium, 12 Minuten später 8 ccm Hundeserum einverleibt und verendet erst nach 21 Stunden und 34 Minuten.

12) Diesem Meerschweinchen wurden auf je 100 g 8,64 cg Morphium und 4 Minuten später 6 ccm Hundeserum injiziert. Es blieb um 15 Stunden und 12 Minuten länger am Leben als jenes, welches unter den Kontrolltieren am längsten lebte.

13) Dem Meerschweinchen wird auf je 100 g 7,77 cg Morphium und 1 Minute später 2 ccm Hundeserum einverleibt; es blieb 6 Stunden und 21 Minuten am Leben.

Die bisher erzielten Resultate kann ich nun in folgende Punkte zusammenfassen:

1) Die sicher tötende Dosis Morphium ist für die Maus größer, als es Morgenroth und Hirschlaff festgestellt haben.

2) Die Meerschweinchen eignen sich zur Wertbestimmung des Antimorphinserums besser als die Mäuse. Eine 7 cg überschreitende Dosis Morphium tötet 100 g des Meerschweinchens sicher.

3) Wenn die Kaninchen einfach mit der fortwährend steigenden Dosis des Morphiums behandelt werden, ist dieses Verfahren recht langwierig und von zweifelhaftem Erfolg. Mit meinem modifizierten Verfahren kann man in viel kürzerer Zeit viel bessere Resultate erzielen.

4) Mit dem Serum der mit der modifizierten Methode behandelten Kaninchen kann man das Leben der, mit der sonst sicher tötenden Dosis des Giftes vergifteten Meerschweinchen verlängern, diese sogar retten, falls die verabreichte Dosis die sicher tötende nicht sehr stark überschreitet und das Serum gleich nach dem Gifte verabreicht wird.

5) Mit dem Serum eines bis zu einem gewissen Grade immunisierten Hundes kann das Leben der mit der sonst sicher tötenden Dosis vergifteten Tiere ebenfalls verlängert werden.

Die erzielten Resultate haben mich ermuntert, das Serum mit der modifizierten Methode in einem größeren Quantum herzustellen. Zu diesem Zwecke habe ich 102 Kaninchen in drei Gruppen nach der modifizierten Methode immunisiert. Die erste Gruppe bestand aus 32 Tieren und ich konnte bei diesen in 19—22 Tagen so weit kommen, daß neune pro Kilo durchschnittlich 71,09 cg reines Morphium vertrugen, zur Zeit, als ihnen das Blut entnommen wurde. Von den 30 Tieren der zweiten Gruppe kamen in 16 Tagen 18 so weit, daß sie pro Kilo 75,06 cg Morphium vertrugen, zur Zeit, als ich sie verbluten ließ. 11 der, aus 40 Tieren bestehenden dritten Gruppe kamen in 16 Tagen so weit, daß sie pro Kilo durchschnittlich 83,38 cg zur Zeit der Blutentnahme vertrugen.

Unter den 102 Kaninchen konnte ich also bei 38 so weit kommen, daß sie nach einer Behandlung von 16—22 Tagen auf das Kilo durchschnittlich 76,53 cg des Giftes vertrugen. Es ist demgemäß jedenfalls wahr, daß die Methode bloß bei 37,25 Proz. der Kaninchen als gelungen betrachtet werden kann, wir müssen aber auch den Umstand in Betracht ziehen, daß ich auch bei diesen 102 Kaninchen bloß feststellen wollte, nach welchem Verfahren ich, bezüglich der Details, vorgehen soll, daß also selbst diese 102 Kaninchen eigentlich nicht zur Herstellung eines Serums, sondern bloß zur Ausarbeitung der Details der modifizierten Methode dienten. Das Resultat dieser Versuche war nun, daß das bei der zweiten Gruppe verfolgte Verfahren die meisten Kaninchen so weit kommen ließ, daß sie als immun betrachtet werden konnten, und daß ich dem gegenüber mit dem, bei der dritten Gruppe verfolgten Verfahren die verhältnismäßig höchste Immunität erzielen konnte, dabei aber relativ die wenigsten Tiere die Behandlung vertrugen. Da diese sämtlichen Experimente bloß einen akademischen Wert haben, so halte ich es für überflüssig, in die Schilderung der Details näher einzugehen. Ueber einen durchschnittlichen Gewichtverlust kann ich bei diesen 102 Kaninchen nicht berichten, da ein Teil derselben während der Behandlung zwar abmagerte, viele aber an Gewicht zunahmen.

Den Wert des aus diesen Kaninchen gewonnenen Serums habe ich nun bei Fällen von chronischem Morphinismus untersucht und habe zu diesem Zwecke erst jene zwei Hunde verwendet, die ich, wie oben bereits erwähnt, mit Recht für Morphinisten gehalten habe. Bevor ich die dabei erzielten Resultate schildern werde, muß ich noch betonen, daß während der Behandlung mit Morphium beide Hunde stets abmagerten. Ja, sie haben an Gewicht durch ungefähr 4 Wochen auch dann abgenommen, als ich bei ihnen die Verabreichung des Morphiums plötzlich einstellte, um sich dann sehr allmählich zu erholen. Die Salivation und das Erbrechen blieb in den späteren Stadien des Morphinismus bei beiden Hunden aus.

Als ich den zwei Hunden das Morphium mit einer gleichzeitigen Verabreichung von Serum zwar stufenweise, aber in einem überaus raschen Tempo entzog, kam ich zu folgenden Resultaten (s. Tab. p. 506):

Am 22. Juni wurden beide Hunde zu andersartigen Versuchen benutzt.

Während der steten Verabreichung von Morphium waren beide Hunde traurig, furchtsam und überhaupt von einem verwahrlosten Aussehen. Nach einigen Tagen der Behandlung mit Serum hingegen wurden sie munter, zutraulich und auch das Fell bekam seinen gewohnten Glanz wieder. Die überaus rasche Zunahme an Gewicht war besonders beim zweiten Hunde auffallend.

Am 22. Juni habe ich beide Hunde, wie bereits erwähnt, einem Kollegen übergeben, der sie zu anderen Versuchen verwendete, indem er an denselben Laparotomien vollzog. Der erste Hund erwies sich bei dieser Gelegenheit als vollkommen gesund, beim zweiten, der seit ungefähr 2 Wochen wieder abzumagern anfing, wurde sowohl bei der Laparotomie, als auch später bei der Sektion eine chronische indurative Pankreatitis konstatiert. Ob nun diese Krankheit der langen Behandlung mit Morphium oder der mit Serum zuzuschreiben ist, oder bloß accidentell entstanden war, kann ich nicht entscheiden.

Zur Zeit, als ich bei den beiden Hunden einen so guten Erfolg der Behandlung mit Serum beobachtet habe, wollte ich das Serum auch an

No. d. Hunde	Datum	Gewicht der Hunde	Das verabreichte Morphium in Ctgr.	Auf das Kilo des Hundes entfallend. Morphium in Ctgr.	Das verabreichte Serum in Kubikc.	Bemerkungen
1	11. Jan.	7 370	160	21,70	—	
	17. „	7 250	128	17,65	1	
	19. „	—	—	—	3	
	21. „	7 720	96	12,43	5	Die seit langem ausgebliebene Salivation tritt auf
	23. „	—	—	—	5	
	25. „	7 890	64	8,41	5	Salivation
	27. „	8 070	—	—	5	
	29. „	8 080	32	3,96	5	Keine Salivation mehr
	31. „	9 000	—	—	5	
	3. Febr.	9 020	—	—	—	
	19. „	9 050	—	—	—	
	25. „	10 500	—	—	—	
2	11. Jan.	6 750	160	23,70	—	
	17. „	5 620	128	22,77	1	
	19. „	—	—	—	3	
	21. „	6 900	96	13,91	5	
	23. „	—	—	—	5	Decubituse heilen. Salivation tritt auf
	25. „	7 420	64	8,62	5	
	27. „	7 520	—	—	5	Salivation
	29. „	7 530	32	4,24	5	
	31. „	7 570	—	—	5	Decubituse geheilt. Keine Salivation mehr
	3. Febr.	8 620	—	—	—	
	19. „	9 400	—	—	—	
	25. „	13 500	—	—	—	

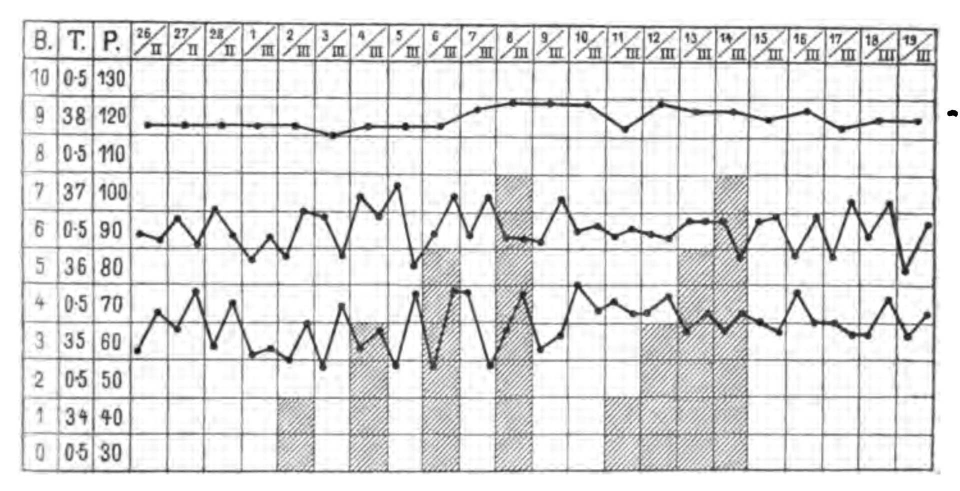
geeigneten Menschen, also an Morphinisten versuchen. Zu meinem großen Bedauern konnte ich das Mittel bloß an zwei Individuen anwenden, da mir keine weiteren Fälle zur Verfügung standen und bei diesen beiden mußte das Verfahren wegen den unangenehmen Nebenerscheinungen auch eingestellt werden.

Beim ersten Kranken wollte ich das Morphium in 5 Tagen stufenweise vollkommen entziehen, indem ich demselben immer mehr Serum verabreichte. Während der ersten 5 Tage waren überhaupt keine unangenehmen Nebenerscheinungen zu bemerken. Am 6., an welchem der Kranke nur mehr Serum bekam, fiel die Frequenz des Pulses bis auf 44 in der Minute, die Temperatur hingegen ist gestiegen, so daß man dem Kranken zwar in überaus kleinen Dosen, aber eine kurze Zeit hindurch wieder Morphium verabreichen mußte.

Der zweite Kranke, bei welchem mein Serum versucht wurde, stand in Prag in Behandlung; von demselben konnte ich bloß so viel erfahren, daß man den Versuch auch bei diesem Kranken unterbrechen mußte, und zwar hauptsächlich darum, weil ein bedenkliches Herabfallen der Temperatur beobachtet wurde, und man die Fortsetzung des Versuches umsoweniger riskieren durfte, da der Betreffende an einem chronischen und vorgeschrittenen Herzleiden litt.

Ich will nun nicht behaupten, daß ich vielleicht etwas Besonderes geleistet habe. Soviel steht aber fest, daß meine Versuche vielleicht auch einigermaßen dazu beitragen werden, den festen Glauben an Ehrlichs oben erwähnten Satz — der übrigens von anderen Seiten auch

schon angefochten wurde — zu erschüttern. Auch das will ich nicht behaupten, daß meine Versuche je einen praktischen Wert haben werden, obwohl man zugeben muß, daß die an bloß zwei Personen gepflogenen und mißglückten Versuche dazu noch nicht genügend sind, die ganze Frage ad acta zu legen, umsoweniger, da, wie die folgende Kurve beweist, das betreffende Serum auf die Temperatur, auf den Blutdruck und auf die Frequenz des Pulses beim gesunden Menschen einen kaum nennenswerten Einfluß ausübt.



Zur Tabelle will ich folgende Bemerkungen fügen: B bedeutet den Blutdruck, mit dem Gaertnerschen Tonometer gemessen. Den Blutdruck habe ich täglich vormittags um 11 Uhr selbst gemessen. Von den drei Kurven der Tabelle zeigt die oberste die tägliche Schwankung des Blutdruckes, die mittlere die der Temperatur (T), die unterste die der Frequenz des Pulses (P). Die Schwankung der Temperatur und der Frequenz des Pulses hat einer meiner Kollegen täglich zweimal beobachtet, der, damit die Beobachtung ganz objektiv vor sich gehe, überhaupt nicht wußte, an welchen Tagen der Beobachtete Serum bekam. Die grauen Felder der Tabelle zeigen, wann und wie viel Serum der Beobachtete bekam, indem je ein graues Quadrat der Tabelle je $^1/_2$ ccm Serum entspricht. Das Serum wurde vormittags um 9 Uhr, also 2 Stunden vor der Messung des Blutdruckes verabreicht.

Die Tabelle veranschaulicht nun jenen Umstand, daß das Serum nur auf den Blutdruck des Gesunden einen nennenswerten Einfluß ausübte, der aber nicht einmal 1 ganzes Grad des Gaertnerschen Tonometers ausmachte.

Ueber die Autocytopräzipitine.

[Laboratorium für allgemeine Pathologie der kgl. Universität zu Siena.]

2. Mitteilung.

Untersuchungen über ein Hepatopräzipitin bei Distomatose.

Von Prof. **Eugenio Centanni.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Die erste Arbeit über diesen Gegenstand hatte im Serum von Kranken und von Versuchstieren das Vorkommen besonderer reaktiver Substanzen nachgewiesen, die unter zwei Bedingungen eine Präzipitation hervorzurufen vermochten, nämlich erstens, wenn man sie mit dem Extrakt verschiedener Organe vermischte, und zweitens, wenn man einfach eine Verdünnung in isotonischer Kochsalzlösung vornahm.

Bei dieser Erscheinung studierte man verschiedene Eigenschaften der reagierenden Körper und des gebildeten Präzipitates, die Bedingungen, unter denen sich die Reaktion am besten vollzog, die Grenzen ihrer Spezifizität und ihre mögliche pathologische Bedeutung.

Andere Fragen mußten unerledigt gelassen werden, und zwar namentlich die Erklärung der Natur der Reaktion in der einen wie in der anderen Form unter Berücksichtigung unserer augenblicklichen Kenntnisse in der Immunitätslehre. Dies liegt zum Teil daran, daß wir über die Eiweißkörper der Zelle noch zu wenig unterrichtet sind, und ferner daran, daß es äußerst schwierig ist, Untersuchungsmaterial in ausreichender Menge zu bekommen. Und wenn man in der Frage der Autocytopräzipitine seit jenen ersten schon ziemlich weit zurückliegenden Untersuchungen noch nicht viel weiter vorwärts gekommen ist, so hat dies ohne Zweifel seinen Grund darin, daß es nicht leicht ist, diese Reaktion, wenigstens in deutlicher Form, bei Krankheiten zu finden oder sie experimentell hervorzurufen.

Es scheinen sogar Zweifel darüber zu bestehen, daß diese Reaktion eine besondere Form für sich ist. So hält es Michaelis z. B. in meiner Arbeit nicht für ausgeschlossen, daß es sich um eine gewöhnliche Fibringerinnung handelt, obgleich ich dort verschiedene Eigenschaften dieser Reaktion angeführt habe, die einen solchen Zweifel als durchaus unbegründet erscheinen lassen. Pohl führt die spontane Koagulation an, die sich bei den Zellproteinen der Extrakte schon bei 38° vollzieht.

Bei der Fortsetzung meiner Untersuchungen hatte ich nach verschiedenen Versuchen das Glück, in dem Blute von Ovinen, die an Distomatose der Leber litten, ein sehr günstiges und reichliches Untersuchungsmaterial zu finden. Bei dieser Krankheit scheint das Phänomen der Autocytopräzipitation sehr verbreitet und von langer Dauer zu sein, wenn ich nach der Anzahl der Fälle urteilen soll, in denen ich es zufällig im Serum geschlachteter Schafe gefunden habe. Bei einem dieser Tiere, das 10 Monate lang im Laboratorium gehalten wurde, habe ich diese Erscheinung ununterbrochen und in deutlichster Weise beobachtet. Dieses Tier hat denn auch den größten Teil des Serums für die vorliegenden Untersuchungen geliefert.

Diese Affektion hat auch den Vorteil, erstens ein Organ zu betreffen, dessen Extrakt in hohem Maße die Eigenschaft der Präzipitierbarkeit

besitzt, und zweitens sich in einer verhältnismäßig umschriebenen Form zu entwickeln. Sie ist daher besonders geeignet, das Reaktionsvermögen eines Organs deutlich zum Ausdruck zu bringen, was man bei den vorhergehenden Untersuchungen, die an verwickelten Infektions- und Intoxikationsformen angestellt wurden, nur schwer erreichen konnte.

Dies alles trägt dazu bei, die Reaktion außerordentlich gut zum Ausdrucke zu bringen. Fügt man zu 5 ccm Distomatoseserum 1 ccm Leberextrakt, so findet schon nach einem halbstündigen Aufenthalte im Brutschranke in deren Mischung eine ausgesprochene Flockenbildung statt und in kurzer Zeit bildet sich ein Präzipitat, das die ganze Rundung des Röhrchens einnimmt, d. h. ungefähr $^1/_5$ der Flüssigkeitshöhe beträgt.

Wir werden nun nacheinander die verschiedenen Faktoren, die an der Reaktion beteiligt sind, studieren.

Die gegenwärtigen Untersuchungen bestätigen die grundlegenden Befunde der vorhergehenden Arbeit und bringen neue wichtige Tatsachen, die zur Erklärung der Natur der Reaktion und der ihr zu Grunde liegenden Gesetze beitragen.

Was die Bereitung des Reaktionsmaterials für die vorliegenden Untersuchungen anbetrifft, so sind nur einige Hinweise hinsichtlich des Organplasmas oder -extraktes erforderlich.

Organ- oder Gewebsstücke von vorher entbluteten Tieren werden in einem Mörser mit 0,85-proz. isotonischer Kochsalzlösung in der fünffachen Menge ihres Gewichtes und mit Quarzstaub fein zerrieben. In der ersten Zeit setzen sich in dem Brei nicht nur die gröberen Detritusmassen des Organes und der Mineralstaub ab, sondern auch ein flockiger Niederschlag, der sich wenige Minuten nach der Zerreibung bildet. Zentrifugiert man nun rasch, so sieht man in der erhaltenen klaren Flüssigkeit kurz darauf eine Trübung und Sedimentierung eintreten.

Nach 24 Stunden gießt man den oberen Teil ab und überläßt das Material sich selbst. Durch spontane Sedimentierung erreicht es dann einen genügenden Grad von Klarheit. Da sich aber die Bildung eines neuen Präzipitates langsam ununterbrochen vollzieht, so ist es besser, vor dem Gebrauche eine energische Zentrifugierung vorzunehmen.

Das ganze Material muß, sofern es nicht gebraucht wird, bei niederer Temperatur oder, besser noch, auf Eis aufbewahrt werden.

Die größte Sorgfalt muß man bei den vorliegenden Untersuchungen darauf verwenden, daß das Organextrakt absolut aseptisch gehalten wird, und daß man auf die leichten Veränderungen achtet, denen es nach seiner Präparation unterworfen ist.

Die gewöhnlichen verunreinigenden Keime rufen nicht nur in fast allen Extrakten eine reichliche Flockenbildung hervor, die sich von der spontanen Präzipitation in Zeit und Menge unterscheidet, sondern können auch in den Mischungen von Serum und Extrakt, die in sterilem Zustande unverändert bleiben würden, Präzipitation erzeugen.

Im Verlaufe der vorliegenden Versuche habe ich immer aseptisches Material verwandt, das stets mit dem Mikroskop und oft auch mittels Kulturen kontrolliert wurde. Bei der Bereitung des Extraktes nach bakteriologischen Regeln läßt sich die Asepsis nicht allzu schwer erreichen, wenn die Zerreibung in einem durch einen Deckel geschützten Mörser vorgenommen wird. Ein Antiseptikum würde zwar die Arbeit in hohem Maße erleichtern, aber der Wert der Untersuchungen kann ganz ein anderer werden — wie ich es übrigens von nicht wenigen Arbeiten glaube — wenn sie sich nicht auf möglichst natürliche Be-

dingungen stützen, nach dem Grundsatze, daß jedes fremde Agens für diese hochempfindlichen Körper nicht unschädlich sein kann.

I. Veränderungen im Organextrakt und ihre Bedeutung bei der Reaktion.

Von den Veränderungen, denen das konservierte Extrakt unterworfen ist — wir reden hier von dem zu diesen Untersuchungen am meisten verwandten, dem Leberextrakt — kann man sich leicht Rechenschaft ablegen, wenn man sich die Lehren der Organautolyse vor Augen hält (Salkowski, Jacoby, Conradi, Pohl).

Uns interessieren folgende Erscheinungen: Das anfangs rosarote und ziemlich durchsichtige Extrakt wird nach und nach opak und grau und läßt schließlich ein voluminöses Präzipitat auftreten, das $^1/_2$ bis $^2/_3$ der Röhrchenhöhe einnimmt und oben von einer gelblichen, vollkommen klaren Flüssigkeit bedeckt ist. Es handelt sich hier sicherlich um vielfache Umformungsgrade des Eiweißmoleküls; im Augenblicke genügt es, das Extrakt in drei Stadien einzuteilen: das native, autolytische und präzipitierte.

In der zweiten Phase, im autolysierenden Extrakt, ist die Präzipitation noch nicht sichtbar eingetreten; denn man kann weder mit dem Mikroskop Flocken unterscheiden, noch durch Zentrifugieren die Flüssigkeit klären. Man muß annehmen, daß sich in dieser Periode die Vereinigung der Agentien vollzieht, welche die Präzipitation bedingen, die einen fermentativen Charakter wie die des Blutplasmas trägt, und daß die eigentliche Präzipitation erst mit der Bildung der kleinen Agglomerate beginnt, die wir aus dem Studium der Kolloide kennen. Ich gedenke, den Prozeß dieser Veränderungen unter dem Ultramikroskop zu verfolgen.

Der Faktor, durch den die Veränderung des Extraktes am meisten beeinflußt und gefördert wird, ist die Temperatur. Im Thermostaten beginnt die Präzipitation im allgemeinen am 2. Tage und ist innerhalb der 1. Woche beendet; bei niedrigerer Temperatur geht sie langsamer vor sich und bei 12—15° zieht sie sich über einen Monat hin. Eis konserviert das Extrakt lange. Durch die lange Aufbewahrung bei niederer Temperatur und mehr noch durch den Zusatz eines Antiseptikums (Toluol) scheinen sich schließlich die präzipitablen Eiweißkörper des Extraktes derartig zu verändern, daß das Material sich als unfähig erweist, die autolytische Veränderung durchzumachen, und daß es bei der Mischung mit aktivem Serum immer träger auf die Wirkung desselben reagiert. Eine ähnliche Erscheinung kann man am Blute hinsichtlich des glykolytischen Fermentes beobachten. Es ist daher gut, wenn das Extrakt oft erneuert wird. In diesen Phasen bestehen Schwankungen hinsichtlich des Organes, der Rasse des Tieres und der Art und Weise der Präparation; die Leber des Hundes reagiert weniger rasch als die des Kaninchens, und Extrakte von stärkerer Konzentration klären sich langsamer.

Nun beeinflussen die verschiedenen Veränderungen, denen das Extrakt unterliegt, in fundamental verschiedener Weise seine Art und Weise, auf das Serum zu reagieren.

Für diesen Versuch läßt man das im Augenblicke hergestellte Leberextrakt einige Minuten lang in Ruhe, darauf wird es zentrifugiert und in den Brutschrank gestellt. In Zwischenräumen von 2 Stunden entnimmt man davon einzelne Portionen, welche man einerseits im Verhältnisse von 1 : 5 mit Distomatoseserum und andererseits zur Kontrolle

mit dem Serum eines gesunden Lammes vermischt. Die so präparierten Röhrchen werden dann 2 Stunden lang im Brutofen belassen und man beobachtet Präzipitation sowohl während dieses Aufenthaltes im Brutofen, als auch in der gewöhnlichen Umgebungstemperatur 24 Stunden lang sogleich nach ihrer Herausnahme aus demselben.

Die Versuche mit dem Kaninchenleberextrakt haben folgende Resultate ergeben:

Tabelle 1.

Dauer	Präzipitat mit Distomatoseserum	Präzipitat mit normalem Lammserum
Sofort	Nichts	Nichts
2 Stunden	Spuren	"
4 "	"	"
6 "	Etwas deutlichere Spuren	"
8 "	" " "	"
10 "	Präzipitat, die halbe Rundung ausfüllend, langsam	"
12 "	" " " " " "	"
14 "	" " ganze " " nach 2 Stunden	"
16 "	" " " " " " 1 Stunde	"
18 "	" " " " " " 1 "	"

Man kann also das Extrakt als reif für die Reaktion nach einem Aufenthalte von durchschnittlich 15 Stunden im Brutschranke betrachten.

Es scheint also, daß das Präzipitogen sich in der normalen Zelle in einer Form befindet, welche nicht direkt von dem Präzipitin unseres Distomatoseserums angreifbar ist, und daß es erst dann angreifbar wird, wenn das Molekül bis auf einen gewissen Punkt seiner Umformung angelangt ist.

Durch diese Form der Reaktion erwirbt das kranke Tier eine Eigenschaft, die wir als ein Schutzmittel ansehen müssen, welches sich nicht gegen physiologische, sondern gegen veränderte fremde Stoffe und Bestandteile richtet. Und wir haben hierin auch einen Beweis für die verschiedene Gestaltung, die das Eiweißmolekül im Verlaufe seiner Spaltung annimmt. Die Chemie hat jetzt viel Licht in diese Frage gebracht; allerdings hat sie hierbei mehr die einfacheren krystallinischen Produkte berücksichtigt, als die noch komplizierten Eiweißkörper, für welche uns die biologischen Reaktionen so glänzende Resultate ergeben.

Bei der Fortsetzung des oben erwähnten Versuches drängte sich uns die Frage auf, ob vor den 10 Stunden die Reaktion nur einfach verzögert ist, d. h. ob die mit dem Distomatoseserum vermischten nativen Eiweißkörper mit der Zeit schließlich die natürlichen Veränderungen des Extraktes mitmachen und infolge davon schließlich reaktionsfähig werden.

Zu diesem Zwecke werden die Röhrchen der vorhergehenden Tabelle, nachdem man die Versuchsergebnisse von 24 Stunden registriert hat, in den Brutschrank gesetzt und 5 Tage darin belassen, bis sich das Extrakt allein schon in einer vorgeschrittenen Präzipitation befindet.

Das Resultat ändert sich nicht merklich; das Präzipitat der ersten Röhrchen ist zwar ein wenig vermehrt, bleibt aber immer als eine dünne Schicht am Boden des Röhrchens liegen, welches sich dadurch gut von den folgenden Röhrchen unterscheidet.

Bei dieser Vermehrung, die sich infolge der langen Einwirkung der erhöhten Temperatur gezeigt hat, muß man daran denken, daß auch in der normalen Leber die Abbauprozesse der Eiweißkörper vor sich gehen,

und daß es andererseits nicht leicht ist, den vollkommen normalen Zustand der verwendeten Leber sicher festzustellen. Ist ferner die Leber sicher krank, wie man bei der Verwendung der Leber eines an Coccidiose leidenden Kaninchens sehen kann, so findet sofort eine deutliche Präzipitation statt, ohne daß irgend eine Reifung vorhergehen muß. Das präzipitierende Serum wird so ein Reagens für den Integritätszustand des Organes.

Die natürlichen Eiweißkörper der Zelle finden also im Serum Substanzen, welche dauernd weitere Veränderungen, wenigstens in unserem Sinne, verhindern. In diesem Punkte unterscheidet sich das präzipitierende Serum nicht von dem normalen, welches dieselben Eigenschaften besitzt, wie Pohl an verschiedenen Zellalbuminen in Uebereinstimmung mit den Fürstschen Untersuchungen am Muskelplasma und den Baerschen an Autolyse gezeigt hat.

Daß das Serum antiautolytische oder, wie ich sie genannt habe, zymostatische Substanzen besitzt, konnte ich durch vergleichende Untersuchungen mit Erythrocyten, Netzhaut und Nierenparenchymstückchen zeigen, welche ich mehrere Stunden lang ohne Flüssigkeit mit normalen und mit pathologischen Seris in den Brutofen gestellt hatte. Die stärkste Lysis fand in dem Gewebe allein statt; sie verzögerte sich bei dem Serumzusatz, und zwar um so mehr, je größer dessen Menge war und je häufiger es erneuert wurde. Die pathologischen Sera ließen nicht selten eine ganz deutliche konservierende Wirkung erkennen, was ich auf die Gegenwart von Antikörpern zurückführte, die sich zur Resorption der autolytischen Fermente der zerstörten Organe gebildet hatten.

Hat das Extrakt das Maximum seiner Aktivität erreicht, so hält sich nach der Meinung von Olivi, welcher besonders diesen Punkt im hiesigen Laboratorium an Hunde- und Kaninchenlebern, die der aseptischen Autolyse ausgesetzt waren, untersucht hat, dieses Maximum während der ersten beiden Tage der Autolyse auf der Höhe, um alsdann mit großer Schnelligkeit wieder zu sinken. Für die Leber in Stückenform ist das Aktivitätsmaximum am 4. Tage auf die Hälfte, am 8. auf ein Zehntel reduziert und am 9. völlig verschwunden. Bei dem Extrakt vollzieht sich, vielleicht infolge davon, daß die Fermente besser in Freiheit gesetzt sind, der Abfall noch rascher und die Wirkung verschwindet völlig am 6. Tage, wo jede spontane Präzipitation aufhört.

Ist die Präzipitation in der Autolyseflüssigkeit verschwunden, so hat man nur noch nachzusehen, ob irgend eine derartige Eigenschaft in dem Sediment, das sich gebildet hat, zurückgeblieben ist. 1 ccm dieses Sedimentes, das wiederholt in isotonischer Lösung gewaschen ist, wird mit 1,5 ccm. Distomatoseserum gemischt und 3 Stunden lang im Brutschranke durch wiederholtes Umschütteln mit ihm in Berührung gehalten; alsdann wird zentrifugiert und mit dem Zentrifugat folgende Versuche angestellt:

Tabelle 2.

Serum	Leberextrakt	Resultat
in Kontakt mit Sediment vom Kaninchen	0,10 0,25	In allen Fällen mit dem Kontrollversuche vollkommen übereinstimmend.
in Kontakt mit Sediment vom Lamm	0,10 0,25	
Ohne Kontakt	0,10 0,25	

Das Präzipitat der Autolyse scheint daher nicht mehr die Eigenschaften zu besitzen, mit dem Präzipitin des Serums zu reagieren, also auch ein Beweis dafür, daß mit dem Fortschreiten der Autolyse das Eiweißmolekül eine substantielle Veränderung erlitten hat.

Die Wirkung äußert sich auch nicht in anderer Form, wie z. B. in der agglutinierenden, denn eine dünne Suspension dieses Präzipitates erscheint nicht unter dem Einflusse des Serums zu größeren Konglomeraten vereinigt.

Alle diese Daten können uns nicht nur in technischer Beziehung bei der Verwendbarkeit des Materials zu den vorliegenden Untersuchungen als Kriterien dienen, sondern uns auch über den Zustand des Individuums während des Verlaufes der Krankheit unterrichten. In der Tat wird es von der Form, in welcher das Zersetzungsprodukt der Organe in das Blut übertritt, abhängen, wie es als Antigen funktionieren kann, um das betreffende Präzipitin zu erzeugen, und ob es schon im lebenden Organismus mit ihm reagieren kann, wenn es dasselbe im Verlaufe der Krankheit schon vorgebildet vorfindet.

II. Ueber die Art und Weise der Vereinigung und über die Beziehungen der Dosen zwischen Serum und Extrakt.

a) Reaktion durch Mischung und durch Ueberschichtung.

Die Reaktionsbedingungen sind verschieden, je nachdem das Extrakt mit dem Serum in der Form einer Mischung oder durch Ueberschichtung vereinigt wird (da es leicht auf dem Serum schwimmt). Der Unterschied hängt von dem Stadium ab, in dem sich das Extrakt befindet, d. h. ob es in nativem oder in autolysierendem Zustande ist. In der folgenden Tabelle verhält sich die Menge des Extraktes zu der des Serums wie 1:5; die Röhrchen sind bis zu 24 Stunden im Brutschranke belassen worden.

Tabelle 3.

Serum	Leberextrakt vom Lamm	Präzipitation	
		Mischung	Ueberschichtung
Schaf mit Distomatose	Natives	Keine	Langsam
	Autolysierendes	Rasch	Rasch
Gesundes Lamm	Natives	Keine	Keine
	Autolysierendes	Keine oder nur Spuren	Keine oder nur Spuren

Die Präzipitation findet im stärksten Maße statt, wenn das autolytische Extrakt über das Serum geschichtet wird. In diesem Falle kann man schon nach einem kurzen Aufenthalte im Brutschranke beobachten, daß die anfangs gerade Linie, welche die beiden Flüssigkeiten trennt, durch Bildung von Konglomeraten unregelmäßig wird, welch letztere durch das Serum hindurch wie langsam fallende Schneeflocken niedersinken und schließlich als dichtes Sediment die Rundung des Röhrchens ausfüllen, während Serum und Extrakt flüssig bleiben.

Auch das native Extrakt reagiert in dieser Form der schichtförmigen Vereinigung; nur geschieht dies langsamer, und es ist dazu Brutschrankwärme erforderlich; nach 24 Stunden ist aber ein ausreichender Grad erreicht. Nach den Resultaten der Tabelle 1 erklärt

sich die Sache leicht; das Extrakt befindet sich zuerst von dem Serum getrennt, bis es durch autolytische Umwandlungen fähig wird, bei seiner Diffundierung in das darunter befindliche präzipitierende Serum zu reagieren. Ein Teil des Extraktes muß übrigens in der ersten Zeit im natürlichen Zustande diffundieren und sich so der präzipitierenden Wirkung entziehen, weil das durch Ueberschichtung mit dem natürlichen Extrakt erhaltene Sediment in der Regel geringer ist, als das mit der gleichen Menge autolysierenden Extraktes erhaltene. Nichtsdestoweniger ist die zonenförmige oder durch Ueberschichtung erhaltene Reaktion sehr günstig, weil man hierbei konservierte Extrakte verwenden kann, die im Anfangsstadium einer langsamen Autolyse stehen, ohne daß man große Rücksicht auf den Grad der Reifung zu nehmen braucht, wie es der Mischungsversuch verlangt, und ohne daß der Grad der Konzentration einen zu großen Einfluß hat. Wir pflegen diese Art der Reaktion regelmäßig zu verwenden.

Der Kontrollversuch, der durch Ueberschichtung normalen Lammserums mit nativem Extrakte angestellt ist, beweist den pathologischen Charakter der erörterten Reaktion mit der größten Deutlichkeit. Das ganze Röhrchen ist vollkommen klar und durchsichtig, ohne die geringste Spur eines Sedimentes zu zeigen.

Folgende Tatsache ist hier bemerkenswert. Das Extrakt, welches anfangs wie eine trübe Schicht aussah, wurde nach dem Kontakt vollkommen klar und durchsichtig wie das Serum, von dem es sich nur noch durch seine rötliche Färbung unterschied. Dies läßt uns vermuten, daß das normale Serum die Eigenschaft besitzt, die zusammengeballten Kolloide wieder aufzulösen, wie auch auf andere korpuskuläre nicht eiweißartige Bestandteile zu wirken, die bei der Zerreibung der Leberzellen in Freiheit gesetzt waren, ein Vorgang, den wir eingehender untersuchen wollen. Diese auflösende Wirkung erstreckt sich übrigens nicht auf das vollkommen ausgebildete Präzipitat, welches keine merkliche Verminderung zeigt, wenn es in indifferente Sera gebracht und mit ihnen selbst im Brutofen lange Zeit in Kontakt gelassen wird.

Die verschiedenen Stadien, in welchen sich das Extrakt befindet, bestimmen in den Ueberschichtungsversuchen die Dauer des Kontaktes. Für das autolysierende Extrakt haben wir es ausreichend gefunden, dasselbe zunächst 2 Stunden lang im Brutofen und dann bis zu 24 Stunden in der Temparatur der Umgebung zu lassen. Tritt dann die Präzipitation infolge zu starker Verdünnung oder Abschwächung der Reagentien nicht im ersten Augenblicke ein, so geht sie im allgemeinen innerhalb dieses Zeitraumes in vollkommener Weise vor sich. Für das native Extrakt ist ein 20—24-stündiger Aufenthalt im Brutschranke erforderlich.

b) Verhältnis der beiden Reagentien.

Diese Bedingung muß in Betracht gezogen werden, da man von den gewöhnlichen Präzipitinen her weiß, in wie tief greifender Weise der Ueberschuß des einen der beiden Reagentien die Reaktion verändern kann. Immer 5 ccm aktiven Serums werden mit wachsenden Mengen des reifen Leberextraktes vermischt. Um den Vergleich zu erleichtern, wird das Sediment in dünnen Röhrchen gleichen Kalibers zentrifugiert und seine Höhe in Centimetern abgemessen.

Die Präzipitation ist nicht proportional der Menge des angewandten Extraktes. Die Reaktion hat ihr Zeit- und Mengenoptimum, wenn die

Tabelle 4.

Röhrchen No.	Autolytisches Leberextrakt	Präzipitat	
		nach 2 Stdn.	nach 24 Stdn.
1	0,01	Keins	Keins, durchsichtig
2	0,05	„	„ „
3	0,10	„	Spuren, „
4	0,25	„	0,6 cm „
5	0,50	Kaum	1,4 „ „
6	1,00	Reichlich, durchsichtig	3,2 „ „
7	2,00	Kaum, trübe	2,7 „ trübe
8	3,00	„ „	2,7 „ „

beiden Reagentien in bestimmten Mengenverhältnissen aufeinandertreffen, welche je nach der Wirksamkeit des Extraktes und Serums variieren — 1 : 5 in der Tabelle —; in diesem Falle erscheint das Präzipitat in seinem ganzen Umfange schon in den ersten Stunden der Mischung. Verlängert man diesen Kontakt, so tritt auch bei den nächsten Proportionen eine Präzipitation ein, jedoch nicht im Verhältnisse zu der Menge des Extraktes, denn in der Tabelle erreicht das Präzipitat mit 0,50 Extrakt nicht die Hälfte von demjenigen mit 1,00. So lassen auch die Ueberschüsse an Extrakt die Flüssigkeit trübe, da die Präzipitation nur langsam stattfindet und nicht ihr Mengenoptimum erreicht.

Man muß also daraus den Schluß ziehen, daß sowohl ein Ueberschuß wie ein Mangel an Extrakt der Empfindlichkeit der Reaktion schadet. Bei der Anstellung der Versuche muß man sich zunächst über das günstigste Verhältnis der Mengen orientieren. Bei der Ueberschichtungsmethode macht sich ein Ueberschuß weniger bemerkbar.

Als Ergänzung zu dem vorigen Versuche wollen wir jetzt untersuchen, ob die Ueberschüsse an Präzipitin und an Extrakt, welche sich mit Ausnahme des Mengenoptimums bei der Präzipitation nicht gezeigt haben, sich auch bei der Mischung im aktiven Stadium finden.

Die über dem Präzipitat befindliche Flüssigkeit in den Röhrchen der Tabelle 4 wird abgegossen und in einer doppelten Röhrchenreihe verteilt. Der einen Reihe fügt man Leberextrakt hinzu, und zwar bis zu No. 5 in der Weise, daß mit der vorhergehenden Menge ein Gesamtwert von 1 : 5 erreicht wird; bei den anderen Röhrchen wird dieser Wert überschritten. Der anderen Reihe von Röhrchen fügt man ebensoviel Distomatoseserum hinzu.

Tabelle 5.

Röhrchen No.	I. Reihe		II. Reihe	
	Extrakt	Präzipit.	Serum	Präzipit.
1	1,00 cm	3,3	5,0	Keine
2	0,95 „	3,3	5,0	„
3	0,90 „	3,1	5,0	„
4	0,75 „	2,2	5,0	„
5	0.50 „	0,9	5,0	„
6	0,50 „	Keine	5,0	„
7	0,50 „	„	5,0	teilweise
8	0,50 „	„	5,0	„

Man findet, daß sowohl das Serum wie das Extrakt, im Ueberschusse hinzugefügt, noch kenntlich sind, aber nicht in ihrem ganzen Umfange.

Es ist nicht gleichgültig, ob man das Mengenoptimum des Extraktes mit einem Male oder in fraktionierten Dosen hinzufügt. Das Röhrchen No. 5 besagt, daß nicht nur das gesamte Präzipitat der beiden Hälften die Präzipitatmenge der ganzen Dose des Röhrchens No 6 nicht erreicht, sondern das Präzipitat der zweiten hinzugefügten Hälfte (Tabelle 5) ist geringer, als dasjenige der ersten Hälfe (Tabelle 4). Es findet auch hier die von Bordet bezüglich der Hämolysine beobachtete Erscheinung ihre Bestätigung, daß nämlich das Präzipitat, welches einen Ueberschuß an aktivem Serum zu seiner Verfügung hat, eine Menge desselben absorbiert, welche größer ist, als diejenige, die zu seiner Bildung eigentlich erforderlich ist.

Das Röhrchen No. 6 zeigt uns, daß das präzipitierende Serum eine vollkommene Erschöpfung erleiden kann, wonach es wie ein normales Serum erscheint und sich gegenüber einer weiteren Hinzufügung von Extrakt und aktivem Serum indifferent verhält. Diese Eigenschaft ermöglicht es, diese Reaktion als Differenzierungsmittel bei Mischungen von mehreren Präzipitinen zu verwenden.

Auch das im Ueberschusse vorhandene Extrakt läßt sich durch eine Hinzufügung von aktivem Serum erkennen, es gelingt aber nicht, ein Präzipitat zu erhalten, welches dem Vielfachen des Röhrchens No. 6 entspricht, d. h. ein Teil des Extraktes verschwindet, ohne präzipitiert zu werden, wie es demnächst im Kapitel 6 besser gezeigt werden wird.

c) Wirkung der Verdünnung der beiden Reagentien.

Dies ist eine Frage, welche das Prinzip der Lehre von den Verdünnungen berührt und auch von technischem Interesse ist, weil das Volumen des Mediums, in dem die Reaktion stattfindet, nicht selten durch die Einführung von Flüssigkeit vermehrt wird, deren Wirkung man durch die Reaktion studieren will.

Zu diesem Zwecke wird die Mischung von 1 ccm Serum und 0,20 ccm Extrakt in fortschreitender Weise mit isotonischer Lösung verdünnt.

Tabelle 6.

Verdünnung	Präzipitat	
	Zeit	Menge
Ohne	10 Stdn.	4,0 mm
1 : 2	24 „	4,5 „
1 : 5	2 Tage	6,0 „
1 : 10	4 „	6,5 „

Die Verdünnung verlängert die Dauer der vollkommenen Sedimentation ganz deutlich, wenn auch die feinen Flocken sich schon vom ersten Augenblicke an gebildet haben. Die Menge des Präzipitats zeigt mit der Vergrößerung der Verdünnung ein beträchtliches Anwachsen, in den von uns untersuchten Fällen bis zu $^1/_3$. Ein Beweis hierfür ist der Umstand, daß die klare Flüssigkeit des Röhrchens ohne Verdünnung nach seiner Dekantierung und Verdünnung eine weitere Präzipitation erkennen läßt; diese Erscheinung besagt, daß die Albumine in konzentriertem Zustande einen Teil des Präzipitates in Lösung zu halten vermögen.

Diese zweite Präzipitation findet indessen, wie wir im Kapitel 6 sehen werden, nicht statt, wenn man mit der Vornahme der Verdünnung zu sehr zögert, weil dann das Serum durch die Verlängerung des Kontaktes die Elemente des Präzipitates, welches sich noch nicht gezeigt hat, umgewandelt hat.

Dieses Phänomen der Präzipitation infolge von Verdünnung erinnert an die Beobachtungen in der ersten Mitteilung; dort zeigte sich nämlich besonders bei einem tuberkulösen Serum, daß außer der Präzipitation, die man bei Hinzufügung von Extrakt erhielt, noch eine andere durch das Serum allein auftrat, wenn man es einfach mit isotonischer Lösung verdünnte.

In dem Serum von distomatösen Schafen habe ich bei meinen Versuchen niemals diese Präzipitation direkt beobachten können, obgleich ich verschiedene Verdünnungsgrade angewandt habe. In dem tuberkulösen Serum jedoch trat sie mit Eigenschaften auf, welche sich nicht sehr mit den jetzt beobachteten decken; namentlich deshalb, weil sie in den konzentrierten Lösungen fast im Augenblicke in Gestalt eines einzigen Blockes auftritt und sich nicht mehr hervorrufen läßt, nachdem die Präzipitation mit dem Extrakt angestellt worden ist. Es muß sich also in diesen Fällen um eine Reaktion für sich infolge von besonderen Bedingungen der Krankheit, um eine Erscheinung von Gelatinisierung der Kolloide gehandelt haben, wie man es manchmal auch an dem Extrakt, das allein in den Brutofen gestellt ist, beobachten kann.

III. Ueber die Spezifizität hinsichtlich der Tierspecies und der verschiedenen Organe.

Die Frage der Spezifizität wurde schon in der ersten Arbeit in Betracht gezogen und es ergab sich damals, daß die präzipitierende Eigenschaft eines und desselben Serums sich im allgemeinen an verschiedenen Organen und bei verschiedenen Tierrassen äußerte; es handelte sich indessen hier um langsame und komplizierte Formen. Es wurde übrigens in diesen Fällen die Möglichkeit gezeigt, daß ein Serum elektive Eigenschaften einem bestimmten Organ und einer bestimmten Krankheit gegenüber äußern könne.

Hinsichtlich unseres Serums wollen wir damit beginnen, die Leber von verschiedenen Tierrassen zu untersuchen.

Tabelle 7.

Leberextrakt von		Distomatose-serum	Resultate
distomatös. Schaf	1 ccm	5 ccm	Reichliche Flocken
gesundem Lamm	1 „	5 „	„ „
Hund	1 „	5 „	„ „
Kaninchen	1 „	5 „	„ „
Ochse	1 „	5 „	„ „
Huhn	1 „	5 „	„ „

Was die Leber anbetrifft, so ist die Präzipitation sowohl für die Species, welche das präzipitierende Serum geliefert hat (mag es sich nun um gesunde oder um kranke Individuen handeln), als auch für verschiedene Species, konstant. Man beobachtet allerdings Schwankungen; es ist aber auch

nicht leicht, die sekundären Bedingungen, wie die Konzentration und die Frische des Extraktes, auszuschalten. Auch die gewöhnlichen Cytotoxine können, wie man gefunden hat, dasselbe Verhalten zeigen; so haben z. B. Hesse und Römer beobachtet, daß das für eine Tierspecies okulotoxische Serum auch für verschiedene Species präzipitierend wirkt.

Wir müssen uns nun fragen, ob es sich einfach nur um ein allgemeines Leberpräzipitogen handelt, oder ob bei den verschiedenen Tierspezies andere Präzipitogene vorkommen, die wenigstens teilweise ihnen eigentümlich sind. Wir benutzen die Methode der elektiven Absorption. Dem Serum wird zu ein Fünftel seines Volumens Extrakt einer Tierspecies hinzugefügt und, wenn nach 2 oder 3 Tagen die Präzipitation vollkommen eingetreten ist, die zwischen dem Präzipitat und der Extraktzone liegende Serumschicht abgesogen; hat man nun erkannt, daß die Absorption beendet ist, so fügt man zu dieser aspirierten Flüssigkeit die Leberextrakte von verschiedenen Tierspecies hinzu.

Tabelle 8.

Serum, absorbiert durch	Leberextrakt (2. Hinzusetzung)	Resultate
Schafleber	Schaf	Nichts
	Hund	Spuren
	Kaninchen	Flocken
Hundeleber	Hund	Spuren
	Schaf	Flocken
	Kaninchen	Spuren
Kaninchenleber	Kaninchen	Nichts
	Schaf	Flocken
	Hund	„

Hieraus geht also hervor, daß die Lebern verschiedener Tierspecies in manchen Fällen besondere Präzipitinogene enthalten, in anderen Fällen wieder nicht und also auch zwischen dieser Art von Präzipitin und anderen Immunkörpern, wie z. B. den physiologischen Hämolysinen für Erythrocyten verschiedener Species, eine Analogie besteht.

Nach der Untersuchung der Leber verschiedener Tierspecies müssen wir darauf achten, ob sich in dem Serum derselben, welches, wie wir wissen, verschiedene immunisierende Prinzipien in physiologischem Zustande enthalten kann, irgend etwas nachweisen läßt, was einem Präzipitin für die Leber der eigenen und fremder Species ähnlich ist.

Tabelle 9.

Normales Serum	Leberextrakt	Resultate
Mensch	Hund	Nichts
	Kaninchen	„
Hund	Hund	„
	Kaninchen	Präzipitat
	Ochse	Nichts
Lamm	Lamm	„
	Kaninchen	Spuren
Ochse	Hund	Nichts
	Kaninchen	„

Im allgemeinen präzipitiert das normale Serum weder das eigene Leberextrakt noch das verschiedener Species in merklicher Weise. Bei den verschiedenen nach dieser Richtung hin angestellten Versuchen habe ich bemerkt, daß, wenn man den Kontakt zwischen dem normalen Serum und dem autolytischen Extrakt im Brutofen länger ausdehnt, oft eine Andeutung von Präzipitat auftritt, welches sich in manchen Fällen noch mehr bemerkbar macht. Hier können wir das wiederholen, was wir hinsichtlich des Leberextraktes gesagt haben; das normale Blut kann nämlich ein Präzipitin als Reaktion auf die physiologische Abnutzung der Organe enthalten, und andererseits sind wir nicht immer sicher, ob sich das Individuum, von dem das Blut entnommen ist, in vollkommen normalem Zustande befindet, und ob nicht übersehene pathologische Momente mitgewirkt haben.

Eine bemerkenswerte Ausnahme tritt uns — mehrfach kontrolliert — auf der Tabelle entgegen, wo, wie man sieht, das Serum eines unserer Hunde das Leberextrakt eines Kaninchens sowohl bei Ueberschichtung als auch bei Mischung reichlich präzipitiert (und war bei 58° inaktivierbar). Durch den Umstand, daß es zur selben Zeit für die eigene Leber ein negatives Resultat liefert, wird jeder Zweifel darüber behoben, daß es sich um ein krankes Individuum gehandelt haben könnte, was übrigens durch die Autopsie auch bestätigt wurde. Es existieren also Zelleiweißkörper einer Species, welche in dem Serum einer anderen Species keine Löslichkeitsbedingungen finden; das Cytopräzipitin ist also kein absolut pathologischer Körper, und man muß an diese Möglichkeit denken, wenn man mit Produkten verschiedener Tiere experimentiert.

Nach der Spezifizität verschiedener Species hinsichtlich der Leber, die wir bisher betrachtet haben, wollen wir uns nun zur Untersuchung der Spezifizität hinsichtlich verschiedener Organe desselben Tieres wenden.

Tabelle 10.

Organextrakte vom Hunde	Präzipitat	Organextrakte vom Hunde	Präzipitat
Leber	Reichlich	Gehirn	Spuren
Nieren	Mäßig	Muskeln	Nichts
Pankreas	Spuren	Lunge	Spuren (etwas mehr)
Hoden	Nichts	Herz	Spuren
Nebennieren	Spuren	Milz	Nichts
Schilddrüse	Spuren (etwas mehr)		

(Schluß folgt.)

Ueber die Verwendung des Natrium glykocholicum für Blutuntersuchungen bei Typhuskranken.

[Aus der I. medizinischen Abteilung des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg in Hamburg (Direktor: Dr. Deneke).]

Von Dr. **Roosen-Runge.**

Die Schottmüllersche Methode der Blutkulturen mit Glycerinagar hat wohl in den letzten Jahren weite Verbreitung gefunden. Sie hat den Kulturen in flüssigen Nährböden gegenüber den Vorteil, daß sie eine Keimzählung ermöglicht, hat aber auf der anderen Seite den Nachteil, und dieser kommt gerade bei Blutuntersuchungen Typhuskranker in Betracht, daß infolge der bakteriziden Kraft des Blutes die Kolonieen sich nur langsam entwickeln. Dieser Umstand läßt auch die Vermutung gerechtfertigt erscheinen, daß ein Teil der im Blute kreisenden Bacillen gar nicht zur Entwickelung kommt.

Daß die sogenannte bakterizide Kraft des Blutes nicht hinreicht, Typhusbacillen abzutöten, sondern daß sie sie nur in ihrer Entwickelung hemmt, dafür sprechen die Untersuchungen von Müller und Gräf aus dem Kieler hygienischen Institute. Diese haben den Blutkuchen der eingeschickten Blutproben in Lackmus-Laktoseagar verrieben und erhielten in 10 von 18 Fällen selbst bei Blutmengen von weniger als 1 ccm Typhusbacillen, und zwar noch bei bis 5 Tage alten Blutproben. Diese Untersuchungen sind von großer praktischer Bedeutung, indem sie beweisen, daß man zur bakteriologischen Typhusdiagnose nicht nur sehr wenig Blut gebraucht, sondern daß dasselbe sich auch noch nach längerer Zeit für die bakteriologische Untersuchung eignet.

Während bei dieser Methode wie bei der Schottmüllerschen im wesentlichen die starke Verdünnung des Blutes für die Eliminierung der bakteriziden Kraft in Betracht kommt, hat man in letzter Zeit durch Einführung der Tiergalle als Nährboden eine Substanz gefunden, die diese Eigenschaft des Blutes wenigstens größtenteils unschädlich macht.

Besonders Conradi, Kayser und Fornet haben die Galle als Anreicherungsmittel für Typhusbacillen verwendet und mit gewisser Abweichung für die Praxis außerordentlich brauchbare Methoden der Blutgewinnung und Verarbeitung angegeben.

Vor wenigen Wochen hat Meyerstein eine Mitteilung veröffentlicht, nach der anstatt Galle mit gleichem Erfolge Lösungen von gallensauren Salzen dem zu untersuchenden Blute zugesetzt werden können. Angeregt durch diese Mitteilung habe ich nun versucht, ob nicht auf diesem Wege auch mit festen Nährböden brauchbarere Resultate bei der Blutuntersuchung Typhuskranker erzielt werden könnten, da ich der Ansicht bin, daß wenigstens in größeren Anstalten zweckmäßig an der Schottmüllerschen Methode festgehalten wird, da sie eine Keimzählung ermöglicht und in Anstalten bequem auszuführen ist.

Ich habe mir deshalb versuchsweise einen 1-proz. glykocholsauren Natriumagar hergestellt [1 l Bouillon von 0,5 kg Ochsenfleisch, 20 g Agar, 10 g Pepton, 5 g NaCl, 10 g Natrium glykocholicum (Merck), schwach alkalisch] und damit meine Blutuntersuchungen gemacht.

Ich bevorzugte das Natrium glykocholicum gegenüber dem Natrium

taurocholicum, da es nach Meyerstein stärker hämolytisch wirkt und ich mir deshalb eine größere Uebersichtlichkeit der Kulturen versprach.

Die Verwendung der Salze hat den Vorzug, daß sie einen der Mühe enthebt, sich Tiergalle zu verschaffen, da sie im Handel zu haben sind, und außerdem garantieren sie eine größere Gleichmäßigkeit des Nährbodens. Die Sterilisation halten sowohl die Galle wie die gallensauren Salze aus, ohne die für uns in Frage kommenden Eigenschaften zu verlieren.

Die Blutuntersuchung wurde wie üblich in der von Schottmüller angegebenen Weise ausgeführt und neben dem neuen Nährboden immer auch einige Röhrchen mit Glycerinagar mit Blut beschickt.

Das Resultat war, daß regelmäßig nach 16 Stunden, das letzte Mal bereits nach 13 Stunden sichtbare Kolonieen vorhanden waren, die ein Abstechen ermöglichten, während auf dem gewöhnlichen Nährboden die Kolonieen bekanntlich frühestens nach 30 Stunden erscheinen. Außerdem aber haben die Untersuchungen ergeben, daß tatsächlich beim Typhus mehr Keime im Blute kreisen, als man bei den bisher üblichen Methoden annehmen konnte, indem regelmäßig eine sehr viel größere Zahl von Kolonieen in dem neuen Nährboden aufging.

No.	Nährboden	Blutmenge ccm	Anzahl der Platten	Anzahl der Kolonieen nach 16 St.	II. Tag	III. Tag	IV. Tag	V. Tag
1	Glykoch. Natriumagar	8	4	600	800	1400	1400	1400
	Glycerinagar	8	4	0	300	700	800	800
2	Glykoch. Natriumagar	7	4	107	108	108	108	
	Glycerinagar	6	3	0	16	28	28	
3	Glykoch. Natriumagar	7,5	3	10	30	30	30	
	Glycerinagar	7,5	3	0	8	14	14	
4	Glykoch. Natriumagar	4	4	30	44	44	44	
	Glycerinagar	6	4	0	1	3	3	
5	Glykoch. Natriumagar	3	3	180	202	202	202	
	Glycerinagar	10	4	0	50	132	140	

Die Kulturen sind sehr viel übersichtlicher als die gewöhnlichen Blutplatten, da das Blut völlig lackfarben wird.

Wenn nun auch die Zahl der Untersuchungen noch sehr gering ist, vielleicht ist auch eine noch günstigere Zusammensetzung des Nährbodens möglich, so glaube ich doch berechtigt zu sein, schon jetzt diesen Nährboden für die Blutuntersuchung beim Typhus zu empfehlen. Es eröffnet sich damit auch die Aussicht, die Prozentzahl der positiven Resultate wesentlich zu verbessern auch bei Verwendung fester Nährböden.

Literatur.

Dörr, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. p. 624.
Müller u. Gräf, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2. p. 69.
Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 17. p. 823; No. 40. p. 1953.
Fornet, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 22. p. 1053.
Eppenstein u. Körte, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 24. p. 1149.
Conradi, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 28. p. 1361; No. 34. p. 1654; No. 49. p. 2386.
Meyerstein, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 38. p. 1864; No. 44. p. 2149.

Ueber die Wirkung der Quarzglas-Quecksilberlampe.

Von Dr. **German**,
Assistenten an der chirurg. Abteilung des städt. Krankenhauses Magdeburg-Sudenburg.

Mit 2 Figuren.

Auf Anregung und unter Mitwirkung von Herrn Privatdozent Dr. Schreiber, Oberarzt des städt. Krankenhauses Magdeburg-Altstadt, stellte ich seinerzeit eine Reihe von Versuchen über die bakterizide Wirkung der von der Platinschmelze Heräus-Hanau in den Handel gebrachten Quecksilberlampe an, deren Ergebnisse hier kurz Platz finden mögen. Ueber die Quecksilberlampe selbst, deren Lichtstrahlen durch reines Quarzglas austreten und so besonders stark zur Wirksamkeit gelangen, ist das Nähere in der von Feldmann veröffentlichten Dissertation (Inaug.-Diss. von Siegfried Feldmann, Göttingen 1905, Juni) nachzusehen. In dieser Arbeit haben auch die ersten Versuche von mir, die mit der Quecksilberlampe angestellt worden sind, bereits Aufnahme gefunden. Ueber die weiteren Ergebnisse unserer Untersuchungen habe ich seinerzeit in der medizinischen Gesellschaft zu Göttingen (Sitzung vom März 1905) berichtet. Ganz abgeschlossen sind die Versuche auch damals noch nicht gewesen.

Was den Gang der Untersuchungen angeht, so scheiterten die ersten Versuche an der Schwierigkeit, das blaue Licht möglichst intensiv auf die den Strahlen ausgesetzten Kulturen einwirken zu lassen. So fielen die ersten Versuche, bei denen in Bouillon aufgeschwemmte Kulturen in möglichst dünner Schicht zur Verwendung kamen, trotz mehrfachen Wiederholens stets negativ aus. Das flüssige Medium setzt offenbar dem Eindringen der Strahlen einen unüberwindlichen Widerstand entgegen. Für diese Annahme spricht auch der kürzlich in der Molkerei-Zeitung mitgeteilte Versuch, den Einfluß der Uviollampe auf Milch in 1 mm hoher Schicht nachzuweisen, der ebenfalls zu keinem Ergebnis geführt hat (Molkerei-Ztg. Bd. XVI. 1906).

Um also das flüssige Medium auszuschalten, nahmen wir unsere Zuflucht zu einer Art „Antrocknungsverfahren". Wir verschafften uns kleine quadratische Glasscheibchen von 1 mm Dicke und 2—3 cm Breite, die leicht in gewöhnliche Reagenzgläschen eingelegt werden konnten. Diese Glasplättchen, die sich gut sterilisieren ließen, impften wir mit 1 Tropfen in Bouillon aufgeschwemmter Kultur. Darauf legten wir die so hergerichteten Plättchen in Petrische Schälchen und ließen sie da im Verlaufe von 4—5 Stunden leicht antrocknen. Sodann wurden die so gewonnenen Kulturen dem blauen Lichte ausgesetzt. Kontrollplättchen, die bei jedem einzelnen Versuche stets von neuem wieder in Bouillon eingelegt und bebrütet wurden, zeigten, daß dieses Verfahren auf die Virulenz der Kulturen keinen merklichen Einfluß hatte. Eine Ausnahme von den zur Verwendung gelangenden Bakterien machte nur der Cholerabacillus. Bei ihm trat eine geringere Widerstandsfähigkeit gegen dieses Antrocknungsverfahren deutlich zutage. Die einzelnen so präparierten Kulturplättchen wurden nun in bestimmten Zeitabschnitten dem Quarzlampenlichte ausgesetzt, dann in Bouillon eingelegt und 3 Tage lang bebrütet bei einer Temperatur von 42°.

Für die Untersuchungen gelangten Kulturen (1 Platinöse Kultur in 10 ccm Bouillon) von Cholera-, Diphtherie-, Milzbrand- und Typhusbacillen, ferner von Staphylokokken und Streptokokken zur Verwendung. Schließlich wurde die Wirksamkeit der blauen Strahlen noch wesentlich verstärkt durch das von Tappeiner zuerst angegebene „Sensibilisierungsverfahren". Es besteht das bekanntlich darin, daß die der Belichtung unterworfenen Objekte mit einer fluorescierenden Substanz, wie Eosin oder Erythrosin, imprägniert werden. Wie aus den folgenden Tabellen ersichtlich ist, bedienten wir uns dieses Verfahrens mit einem merklichen Erfolge gegenüber den „nicht sensibilisierten" Kulturen. Gleichzeitig mag dieser Erfolg aber auch dafür sprechen, daß auch bei dem „blauen" Lichte die „roten" oder „Wärmestrahlen" offenbar aktiv tätig sind und nicht außer acht gelassen werden können.

Zum Sensibilisieren verwandten wir eine Erythrosinlösung in einer Verdünnung von 1 : 4000, nachdem wir uns davon überzeugt hatten, daß diese Lösung auf die Bakterien auch bei längerer Einwirkungsdauer keinen schädigenden Einfluß hat. Außerdem wurden bei jedem einzelnen Versuche Kontrollplättchen mit Erythrosin eingelegt, die abseits der Lichtquelle dieselbe Zeit verblieben, wie die den Strahlen ausgesetzten Kulturen.

Ueber den Effekt der Versuche und die Zeitdauer des Einwirkens der blauen Strahlen gibt Tabelle I Aufschluß. Die daselbst aufgeführte Bogenlampe entspricht der von Schreiber angegebenen Kombination der Quecksilberquarzlampe mit einer Miniaturbogenlampe. Die Lichtstärke beider Lampen beträgt je 150 Normalkerzen, die Stromstärke 3 Ampère. Die Lampen können sowohl einzeln als auch gleichzeitig brennen. In letzterem Falle dient die Bogenlampe der Quarzlampe zugleich als Widerstand. Näheres darüber ist aus der schon erwähnten Feldmannschen Dissertation zu ersehen.

Tabelle I.

a) Bogenlampe; Kulturen nicht sensibilisiert.

Expositionsdauer in Minuten	30	40	50	60
Cholera	+	+	+	+
Diphtherie	+	+	+	+
Milzbrand	+	+	+	+
Staphylokokken	+	+	+	+
Streptokokken	+	+	+	+
Typhus	+	+	+	+

b) Bogenlampe; Kulturen sensibilisiert.

Expositionsdauer in Minuten	20	30	40	50	60
Cholera	+	+ (18)	+ (35)	+ (35)	+ (35)
Diphtherie	+	+ (35)	+ (35)	+ (35)	+ (35)
Milzbrand	+	+ (35)	+ (35)	+ (35)	+ (35)
Staphylokokken	+	+ (18)	+ (18)	+ (18)	+ (18)
Streptokokken	+	+ (18)	+ (18)	+ (18)	+ (18)
Typhus	+	+ (18)	+ (18)	+ (18)	+ (18)

c) Quecksilberquarzlampe; Kulturen nicht sensibilisiert.

Expositionsdauer in Minuten	30	40	50	60
Cholera	0	0	0	0
Diphtherie	+ (20)	+ (40)	0	0
Milzbrand	—	+ (40)	+ (40)	+ (40)
Staphylokokken	0	+ (40)	+ (40)	+ (40)
Streptokokken	+ (64)	+ (85)	0	+ (40)
Typhus	0	0	0	0

d) Quecksilberquarzlampe; Kulturen sensibilisiert.

Expositionsdauer in Minuten	20	30	40	50	60
Cholera	0	0	0	0	0
Diphtherie	0	0	0	0	0
Milzbrand	+	+ (40)	0	0	0
Staphylokokken	+	0	0	0	0
Streptokokken	+ (38)	+ (40)	+ (40)	+ (85)	0
Typhus	0	+ (40)	+ (40)	0	0

e) Bogen- + Quarzlampe; Kulturen nicht sensibilisiert.

Expositionsdauer in Minuten	15	20	25	30	30	60
Cholera	+	0	0	0	0	0
Diphtherie	+	+ (19)	0	0	0	0
Milzbrand	+	+ (70)	+ (39)	+	0	0
Staphylokokken	+	+ (35)	0	0	0	0
Streptokokken	+	+ (16)	+ (16)	0	+ (16)	0
Typhus	+	+ (25)	+ (66)	0	—	0

f) Bogen- + Quarzlampe; Kulturen sensibilisiert.

Expositionsdauer in Minuten	10	20	20	25	30	60
Cholera	0	0	0	0	0	0
Diphtherie	0	0	0	0	+ (90)	0
Milzbrand	+ (70)	+ (70)	0	0	0	0
Staphylokokken	+ (35)	0	0	0	+ (40)	0
Streptokokken	+ (19)	+ (19)	0	0	0	0
Typhus	+ (35)	0	+ (16)	—	—	0

Bei den Tabellen bedeutet + gewachsen, 0 nicht gewachsen, die mit Zahlen versehenen Klammern (. .) Wachstumsverlangsamung mit Stundenzahl, — ausgefallen.

Der Effekt der Quarzglas-Quecksilberlampe geht aus den angeführten Tabellen zur Genüge hervor. Was aber ist das Wirksame des Lichtes? Ist es wirklich ausschließlich das blaue Licht, sind es die mit den blauen gleichzeitig auftretenden Wärmestrahlen oder beide zusammen oder endlich beide im Verein mit dem beim Brennen der Lampe nicht unbedeutend entwickelten Ozon? Um diese Fragen zu entscheiden, mußten die Versuche daher mit Ausschluß der genannten Faktoren wiederholt werden.

Um die Wärmewirkung des Lichtes auszuschalten, versuchten wir zunächst, die mit der Kultur geimpften Plättchen auf eisgekühlter Unterlage der Belichtung auszusetzen. Der Erfolg war gleich Null. Andere Maßnahmen scheiterten an technischen Schwierigkeiten, vor allem an der Beschaffung einer geeigneten Kammer, die, ohne den Zutritt der blauen Strahlen zu verhindern, die Wärmewirkung der Lampe auf ein Minimum herabzusetzen im stande war. Dieser Schwierigkeit wurden wir enthoben durch das Entgegenkommen des physikalischen Institutes in Göttingen. Es überließ uns eine aus reinem Quarzglas hergestellte Röhre, die sich zu unseren Versuchen ganz vorzüglich eignete.

Wie gesagt war die Röhre aus reinem Quarzglase gefertigt. Das eine im stumpfen Winkel abgehende Ende konnte mit einer Wassersaugpumpe in Verbindung gesetzt werden, während das andere Ende einen Schlauch trug, durch den reine atmosphärische Luft mittels der Saugpumpe durch die Glasröhre gesaugt werden konnte. Das Innere der Röhre war weit genug, um eine $1^1/_2$—2 cm breite Glasbrücke aufzunehmen, die nach voraufgegangener Sterilisation mit den Kulturplättchen beschickt werden konnte. Zwei seitlich der Glasröhre aufsteigende hohle Schenkel, die mit dem Innern in Verbindung waren, gestatteten die Einführung eines Thermometers, mittels dessen die

Temperatur im Innern der Röhre jederzeit gut abgelesen werden konnte. Die mit den Kulturplättchen beschickte Quarzglasröhre wurde nun dem blauen Lichte ausgesetzt, während der mittels der Saugpumpe unterhaltene Luftstrom innerhalb der Röhre die Temperatur auf einer bestimmten Höhe hielt. Auf diese Weise konnten die Kulturen bis zu 30 Minuten bei einer Temperatur belichtet werden, die nicht über 36—37° C betrug. Die Tabelle, die bei diesem Versuche gewonnen wurde, ergibt ein Abtöten der Kulturen nach Verlauf von im Maximum 30 Minuten.

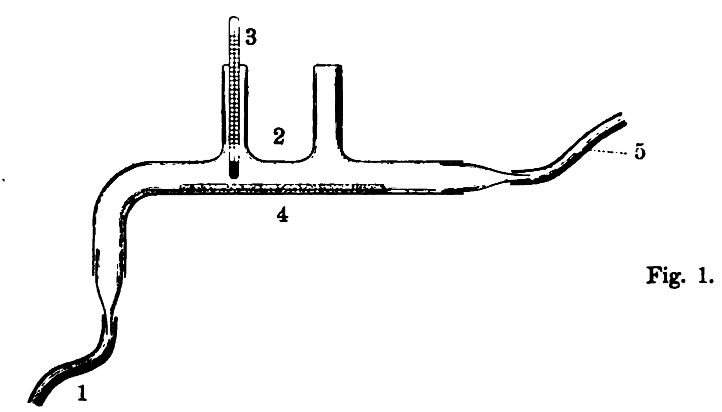


Fig. 1.

1 Luftzufuhr. 2 Quarzröhre. 3 Thermometer. 4 Glasbrücke mit Kulturplättchen. 5 Saugpumpe.

Tabelle II.

a) Quarzlampe allein; Kulturen sensibilisiert | nicht sensibilisiert

Expositionsdauer in Minuten	25	30	45	25	30	45
Cholera	0	0	0	0	0	0
Diphtherie	0	0	0	0	0	0
Milzbrand	+	+ (18)	0	+ (18)	+ (18)	+ (18)
Staphylokokken	0	0	0	0	0	0
Streptokokken	+ (24)	+ (24)	0	+ (24)	0	+ (24)
Typhus	0	0	0	+ (18)	0	+ (18)

b) Bogenlampe allein.
Expositionsdauer 1 Stunde; sämtliche Kulturen +.

c) Quarzlampe + Bogenlampe; Kulturen sensibilisiert.

Expositionsdauer in Minuten	25	30	35
Diphtherie	+	0	0
Milzbrand	+	+	+
Staphylokokken	+	0	0
Streptokokken	+	+	0
Typhus	+	0	0

Dieser Versuch war also entscheidend für die Frage, ob die Wärmewirkung bei dem blauen Lichte eine Rolle spiele oder nicht. Wohl aber konnte ein anderes Moment bei der Wirksamkeit der Lampe im Spiele sein, auf das zunächst keine Rücksicht genommen worden war. Wie schon erwähnt, bildet sich beim Brennen der Lampe in nicht unbeträchtlicher Menge Ozon. Dasselbe ist schon durch einen intensiven Geruch bemerkbar. Jodstärkepapier, dem Lichte ausgesetzt, färbt sich fast augenblicklich intensiv schwarzblau. Sollte also dem Ozon, das

aus der Umgebung der Lampe mittels der Saugpumpe ins Innere der Röhre gesaugt wurde, vielleicht ein Einfluß auf die Kulturen zugeschrieben werden müssen? Ein Kontrollversuch, bei dem die Saugluft direkt der Atmosphäre entnommen wurde, schien das zunächst zu bestätigen. Das eine Ende der Quarzröhre wurde mit einem Gummischlauch armiert und dieser direkt mit der Außenluft durch das Fenster in Verbindung gebracht. Auf diese Weise konnte kein außerhalb der Quarzröhre gebildetes Gas zur Wirksamkeit gelangen. Die gewonnene Tabelle zeigt ein Erhaltenbleiben der Virulenz bei den meisten Kulturplättchen. Immerhin trat doch bei einem Teil der bestrahlten Kulturen ein Absterben ein.

Tabelle III.

Quarzlampe + Bogenlampe. Kulturen sensibilisiert.

Expositionsdauer in Minuten	15	20	25	30
Cholera	+	+	—	—
Diphtherie	+	+	+	+
Milzbrand	+ (12)	+ (12)	+ (12)	+ (12)
Staphylokokken	+	—	+ (12)	—
Streptokokken	+ (18)	+ (18)	+ (18)	+ (18)
Typhus	+ (18)	—	—	+ (18)

Zugegeben auch, daß das Ozon wirklich den Ausfall verschuldet hat, so ist aber noch außerdem mit der Möglichkeit zu rechnen, daß nicht nur das von der Außenluft zugeführte Ozon, sondern auch das „innerhalb der Röhre“ infolge der Belichtung auftretende Gas, das vielleicht gerade „in statu nascendi“ besondere bakterizide Kraft zu entfalten vermag, das Absterben der Kulturen bedinge. Um darüber Klarheit zu bekommen, ordneten wir den letzten Versuch derart an, daß das blaue Licht selbst gar nicht mit den Kulturen in Berührung kam, sondern nur das von der Quarzlampe gebildete Gas auf die Kulturen einwirken konnte.

Licht und Wärme wurden bei diesem Versuche ganz ausgeschaltet und nur das von der Lampe innerhalb eines geschlossenen Raumes gewonnene Gas aufgefangen und mittels einer Saugpumpe in einen Glascylinder geleitet, in dem sich die in der alten Weise hergerichteten Kulturen befanden. Die Lichtquelle war in einem Blechkasten untergebracht. Letzterer war vollständig in Eis eingepackt, während mittels der Saugpumpe aus einer eisgekühlten Flasche fortwährend eiskalte Luft zugeführt wurde. Das im Innern des Blechkastens von der Quecksilberlampe gebildete Gas wurde abgesaugt und durch eine Glasröhre geleitet, in der sich die Kulturen befanden. Unmittelbar in der Umgebung der Kulturen und noch weiter ab am Ende des zu der Wassersaugpumpe gehörigen Schlauches eingelegte Streifen von Jodstärkepapier zeigten durch intensives Blauwerden, daß das Gas gut aus dem Kasten abgesaugt wurde. Das Gas ließ ich bis zu $1\frac{1}{2}$ Stunden auf die Kulturen einwirken, ohne daß ein wesentlicher Einfluß zu bemerken war. Auch in diesem Falle wurde die innerhalb des Glascylinders herrschende Temperatur mittels Thermometer stets beobachtet und kontrolliert. Ein vermindertes Wachstum war alles, was dabei beobachtet wurde.

Tabelle IV.

Gas (Ozon); Einwirkung auf die Kulturen.

Dauer der Einwirkung in Minuten	35	75	120
Diphtherie	+ (25)	+ (25)	+ (25)
Milzbrand	+ (25)	+ (25)	+ (25)
Staphylokokken	+ (25)	θ	θ
Streptokokken	+ (25)	+ (25)	+ (25)
Typhus	+ (25)	0	0

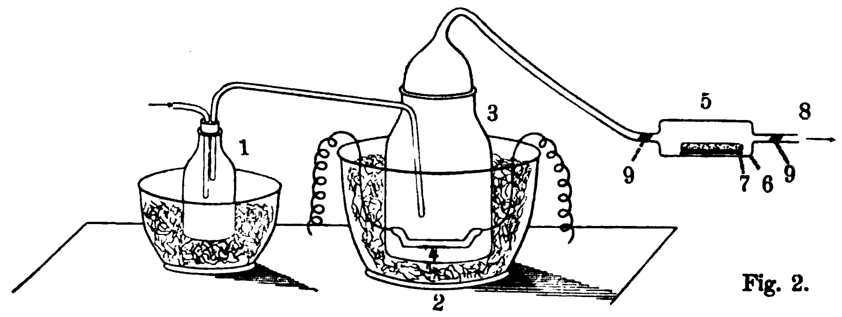


Fig. 2.

1 Zufuhr eisgekühlter Luft. 2 Wanne mit Eis. 3 Blechcylinder mit Abzugsrohr. 4 Quecksilberlampe. 5 Glascylinder. 6 Glasbrücke mit Kulturplättchen. 7 Thermometer. 8 Saugpumpe. 9 Jodstärkepapier.

Aus dem letzten Versuche geht hervor, daß das fertig gebildete Ozon keinen nennenswert bakteriziden Einfluß auszuüben im stande ist. Dagegen kann ich nicht sicher entscheiden, ob nicht etwa das während der Bestrahlung entstehende Ozon (in statu nascendi) bakterizid wirkt. Denn man könnte immerhin sagen, daß trotz des kräftigen Absaugens sich doch noch soviel Ozon gebildet hätte, daß es im stande gewesen wäre, die Bakterien abzutöten. Auf der anderen Seite erscheint es mir aber wahrscheinlicher, daß die ultravioletten Strahlen direkt chemisch wirksam sind auch ohne Beteiligung des Ozons. Ich komme damit zu demselben Schlusse wie Bie, der ja nachgewiesen hat, daß bei seinen Versuchen Wasserstoffsuperoxyd nicht in Frage kommt.

Herrn Prof. v. Esmarch, der die große Liebenswürdigkeit hatte, unsere Versuche durch Rat und Tat zu fördern, gestatte ich mir, an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Inhalt.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Ueber Versuche mit Tuberkelbacillenstämmen menschlicher Herkunft an Schlangen und Blindschleichen und über Mutationen menschlicher Tuberkelbacillen.

[Aus der Heilanstalt Alland bei Baden (Niederösterreich).]

Von

Privatdozent Dr. **Josef Sorgo**, Chefarzt der Heilanstalt. und Dr. **Erhard Suess**, I. Hausarzt der Heilanstalt.

(Schluß.)

Kulturen wurden angelegt aus mediastinalen Tuberkelknötchen.

Bei Brutschranktemperatur blieben alle Röhrchen (Somatoseagar, Glycerinagar, Ei) steril; bei Zimmertemperatur wuchsen auf denselben Nährböden zahlreiche Kolonieen von Tb. in Reinkultur. Die Kulturen hatten folgende Merkmale:

Agar: Trockene, faltige Warzen mit hellerem, dünnem, weißem Saum.

Glycerinagar: Unregelmäßige kleinere und größere konfluierende, trockene, weiße Wärzchen.

Somatoseagar: Zum Teil harte, schwer zerreibliche Warzen, die in 5 Monate alten Kulturen feucht werden, zum Teil feine Schuppen bildend, von demselben Aussehen, wie jene menschlicher Tb. auf Somatoseagar.

Hirn-Glycerinagar: Trockene, warzig-krümelige Auflagerungen, weiß, mit einem Stich ins Graugelbliche. Das Wachstum ist auf diesem Nährboden reichlicher als auf den früher genannten.

Glycerin-Rinderserum: Runde, etwas feucht glänzende, grauweiße, später zu einem dünnen, feinfaltigen, fettig glänzenden Belag konfluierende Kolonieen, unter welchen sich nach ca. 3 Monaten der Nährboden mitunter violett zu verfärben beginnt. Das Wachstum auf diesem Nährboden ist ziemlich langsam und spärlich, im Gegensatz zu den früher genannten Nährböden, ebenso wie auf

Glycerin-Schweineserum: Daselbst einen trockenen, mitunter ziemlich glatt bleibenden, mitunter zu großen Warzen auswachsenden, grauweißen Belag bildend. Mitunter schon nach 6 Wochen braunviolette Verfärbung des Nährbodens. Mit der zunehmenden Tiefe der Nährbodenverfärbung nimmt auch der warzige Belag eine grauviolette Eigenfarbe an. In den Anfangsstadien der Farbstoffbildung ist die Verfärbung der Kultur nur eine scheinbare, durch den darunterliegenden verfärbten Nährboden vorgetäuscht, während späterhin sich auch die Eigenfarbe der Kultur in der geschilderten Weise ändert.

Ei: Trockener, grauweißer, krümeliger Belag, nach 3 Monaten braunschwarz-violett werdend.

Bouillon: Oberflächliche Hautbildung, krümeliger Bodensatz; die Bouillon wird nicht getrübt.

Sämtliche Kulturen bestehen aus säurefesten, meist kurzen, gleichmäßig und gut gefärbten, oder längeren, blässeren Individuen. Nach $1^1/_2$ Monaten tritt zum Teil große, tiefrote Körnung auf. Eine 8 Tage alte Glycerinagarkultur war mit sehr zahlreichen ebenso geformten, nicht säurefesten Stäbchen vermengt, welche nach weiteren 2 Wochen sämtlich säurefest wurden.

Mit diesem Stamme wurden subkutan geimpft, und zwar mit einer 6 Wochen alten Glycerinagarkultur:

1) Eine weiße Maus (M. 9), getötet nach 100 Tagen, negativer Befund.

2) Ein Meerschweinchen (M. 140), eingegangen nach 100 Tagen; an der Impfstelle eine kleine, dunkel pigmentierte Narbe. Axillardrüsen nicht geschwellt. Eine Bronchialdrüse und mehrere Mesenterialdrüsen geschwellt, doch mit negativem bacillären Befund.

3) Ein Kaninchen (K. 26), getötet nach 100 Tagen, negativer Befund.

4) Eine Schlange (Schl. 37), eingegangen nach 64 Tagen. In gelbgefleckten Herden der Leber lange, dicke, nicht säurefeste Bacillen. Im übrigen negativer Befund.

Für die Beurteilung dieses Falles kommen in Betracht der pathologisch-anatomische Befund und die Eigentümlichkeiten der gewonnenen Tb.-Kultur. In ersterer Hinsicht ist von Bedeutung, daß der Ausgangspunkt der Infektion und die weitere Ausbreitung derselben im Schlangenkörper durch den pathologisch-anatomischen Befund ziemlich klargestellt erscheint. Die subkutanen tuberkulösen Knötchen gegen den Hals zu und dann die vom Unterkieferwinkel an bis in das Abdomen in abnehmender Intensität sich erstreckende miliare Aussaat lassen die Erkrankung wohl ziemlich ungezwungen als das Resultat der vorgenommenen Infektion deuten. Für diese Auffassung spricht des weiteren das Fehlen jeglichen tuberkulösen Befundes in der Leber, welche sonst sowohl für die spontane Tuberkulose, als auch für die säurefesten saprophytischen Stäbchen einen Lieblingssitz darstellt. Auch der Umstand, daß sich kein älterer tuberkulöser Herd auffinden ließ, welcher den Ausgangspunkt für die miliare Dissemination hätte bilden können, spricht für unsere Auffassung der Erkrankung als experimenteller Tuberkulose.

Mit dieser Anordnung in Uebereinstimmung steht das eigentümliche kulturelle Verhalten des gewonnenen Stammes, welcher Merkmale beider Arten, der Menschen- und der Kaltblüter-Tb., vereinigt. Mit dem Kaltblüter-Tb. hat er gemein das Wachstum bei Zimmertemperatur, die Farbstoffbildung, namentlich in älteren Kulturen, das weniger üppige Wachstum auf Serumnährböden, das Wachstum auf Agar ohne Glycerin und das in jungen Kulturen oft massenhafte Auftreten nicht säurefester Stäbchen, welche erst bei weiterem Wachstum säurefest wurden. Mit dem Menschen-Tb. hat er das trockene, krümelig-warzige Wachstum gemein. Auch in der mangelnden Pathogenität für Meerschweinchen und Kaninchen steht er der ersten Gruppe nahe. Die scheinbar fehlende Pathogenität für Schlangen, welche er bei Ueberimpfung auf eine Schlange erwies, hat insofern nichts Befremdendes, da man bei Stämmen, die eine große Neigung zu Varietätenbildung zeigen, eine Konstanz ihrer pathogenen Eigenschaften nicht erwarten darf, wofür der unter IV zu beschreibende Stamm mit seiner wechselnden Pathogenität für Meerschweinchen ein schönes Beispiel bietet.

Aus dieser Versuchsreihe würde demnach der Schluß sich ziehen lassen, daß menschliche Tb. bei Schlangen haften und tuberkulöse Veränderungen erzeugen können, bei gleichzeitiger teilweiser Transformation ihrer biologischen Eigenschaften in jene der Kaltblüter-Tb.

III.

Aeskulapschlange (Schl. 19). Am 28. Aug. 1905 mit einer 9 Monate alten, $7^1/_2$ Monate bei Zimmertemperatur gestandenen Rinderserumkultur

geimpft. Die Kultur wurde aus Sputum gezüchtet und hatte eine Meerschweinchenpassage durchgemacht. Der Stamm wuchs typisch, hingegen hatte die verwendete Kultur eine zitronengelbe Farbe und bildete einen dünnen körnigen Belag auf der Nährbodenoberfläche, welcher durch das Alter etwas schmierig geworden war. Die Kultur war, wie das Mikroskop und Ueberimpfungen erwiesen, eine Reinkultur von blassen, säurefesten, sehr feinen Stäbchen. Die Bildung eines zitronengelben Belages auf Rinderserum haben wir bei Kulturen menschlicher Tb. schon beobachtet. Die subkutan geimpfte Schlange ging 57 Tage nach der Impfung ein.

Autopsiebefund: An der Impfstelle ein erbsengroßes nekrotisches Infiltrat. Entlang der Trachea kleine, knötchenförmige Herde. Die Oberfläche der Lunge sowohl wie deren Inneres durchsetzt von rötlichen, weichen, bis stecknadelkopfgroßen grünweißen Knötchen. Ebensolche verstreut über das Peritoneum. Die Leber gelblich gesprenkelt. In den Knötchen wie an der Impfnekrose sehr zahlreiche kurze, gut gefärbte säurefeste Bacillen. In Strichpräparaten des Leberparenchyms blaue, dicke Stäbchen, aber keine Tb.

Histologisch: Die Lunge durchsetzt von zahlreichen, zum Teil intraalveolär, zum Teil in den Alveolen gelegenen Herden von nekrotischen Zellen und Kernfragmenten, die durch ein Gebiet ziemlich großer, zum größten Teil eosinophiler Zellen vom umgebenden Lungengewebe abgegrenzt sind. Außer diesen Herden Anhäufungen von Rundzellen ohne Nekrose. In beiden Bildungen zahlreiche, meist ziemlich lange, zum größten Teil intracellulär gelagerte Tb. Die übrigen Alveolen sind ausgefüllt mit zellarmem Exsudat, in dem vereinzelte Tb. liegen. Außerdem in der ganzen Lunge zerstreut, auch im normalen Parenchym, zahlreiche dicke, lange, nicht säurefeste Bacillen.

Aus der Impfstelle, sowie aus einem Lungenknötchen wurde je ein Tb.-Stamm in Reinkultur gezüchtet. Infolge der begleitenden, offenbar postmortal gewucherten, nicht säurefesten Bacillen wurde die Tb.-Züchtung aus der Lunge mit Hilfe der Formaldehydmethode vorgenommen. Die beiden Stämme verhielten sich sowohl kulturell, als hinsichtlich ihrer Tierpathogenität vollkommen identisch.

Kulturelle Eigenschaften: Bei Bruttemperatur kein Wachstum. In Zimmertemperatur:

Auf Agar ein reichlicher feuchter, faltiger Belag, weiß, mit einem Stich ins Graugelbe.

Auf Glycerinagar wie auf Agar.

Auf Somatose ein dünner feuchter, schmieriger, weißer Belag.

Auf Rinderserum, von Somatose abgeimpft, ein langsam wachsender, feuchter, weißer Belag. Nach 4 Wochen beginnende Verfärbung des Nährbodens, der später zunächst braunviolett, nach 3 Monaten braunschwarz wird, während die Kultur selbst eine schmutzig grauweiße Farbe annimmt. Bei Ueberimpfung von Ei auf Rinderserum ist das Wachstum sehr spärlich, einen feuchten, glänzenden, aus feinsten punktförmigen Kolonieen zusammengesetzten Belag bildend. Auch nach 6 Monaten keine Andeutung von Farbstoffbildung, weder des Nährbodens noch der Kultur.

Schweineserum. Feuchter, weißer, butterartiger Belag mit einem Stich ins Gelbliche, sowohl bei Abimpfung von Ei als auch von Somatose ohne Farbstoffbildung nach 6 Monaten. Wachstum auf Schweineserum bei Ueberimpfung von Somatose sehr spärlich, reichlicher bei Ueberimpfung von Ei.

Kartoffel. Sehr reichlicher dicker, schaumartiger, grauweißer Belag

Ei. Reichlicher butterartiger, weißer Belag. Nach 4 Wochen beginnende Farbstoffänderung des Nährbodens ins Rötlichviolette, später ins Braunviolette mit allmählich sich ausbildender schwärzlicher Verfärbung der Kultur selbst.

Bouillon mit und ohne Glycerin. Häutchenbildung und krümeliger Bodensatz. Die Bouillon nicht getrübt. Wachstum bei Glycerinzusatz reichlicher als ohne Glycerin.

Tierversuche wurden angestellt:

I. Mit Lungenemulsion der geimpften Schlange, nach Formaldehydbehandlung der Emulsion: Eine hiermit subkutan infizierte Ringelnatter (Schl. 33) starb nach 51 Tagen bei vollkommen negativem Befunde; ebenso ein 100 Tage nach der Impfung eingegangenes Meerschweinchen (M. 137).

II. Mit den gewonnenen Kulturen:

a) Mit einer 4 Wochen alten Eierkultur aus der Impfstelle wurden subkutan infiziert:

1) Eine Maus (M. 7). Nach 104 Tagen getötet. Negativer Befund.

2) Meerschweinchen (M. 138). Ging ein nach 42 Tagen. Außer mäßiger markiger Schwellung der Axillardrüsen bei negativem bacillären Befunde normale Verhältnisse. Auch im Herzblute keine Tb.

3) Kaninchen (K. 24). Getötet nach 104 Tagen. An der Impfstelle ein lappiger, gelblicher, 8 cm langer, $3^1/_2$ cm breiter, ausschälbarer, mit zähem, weißem Brei gefüllter Sack. Im Brei mäßig zahlreiche, kurze bis lange, blasse, gekörnte, säurefeste Stäbchen. Einzelne pigmentierte und etwas vergrößerte bronchiale Drüsen. In der Lunge einzelne kleinste, palpable, derbe Knötchen, in deren Strichsaft einzelne unförmliche, säurefeste Stäbchen lagen. Daneben kleine, sulzig-hämorrhagisch aussehende Herde.

Kulturen aus dem Brei der Impfstelle und der Lunge blieben sowohl bei Brut- als bei Zimmertemperatur steril.

Histologisch fanden sich in der Lunge einzelne Alveolen, ausgefüllt mit Alveolarepithel-ähnlichen Zellen und roten Blutkörperchen. In diesen Herden waren keine Tb.

4) Ringelnatter (Schl. 35). Eingegangen nach 68 Tagen. Impfstelle in kreuzergroßer Ausdehnung verkäst. Im Käse mäßig zahlreiche, kurze bis lange, zumeist dunkelgefärbte, säurefeste Stäbchen. Lunge frei. Leber von gelblichen Herden durchsetzt und außerdem sowohl an der Oberfläche als im Durchschnitt nur mit der Lupe sichtbare, dichte, graue Knötchen; in deren Strichsaft mäßig zahlreiche, kurze bis lange, dunkle und blaßgefärbte, säurefeste Stäbchen. Milz von großen, konfluierenden, grauweißen Herden durchsetzt. Das Fettgewebe des Abdomens bedeckt und durchsetzt von zahlreichen, eben noch sichtbaren, gelblichen, grauen Knötchen. Ebensolche in großer Zahl im rechten Ovarium. In den letzterwähnten Herden zahlreiche säurefeste Stäbchen im Strichsaft.

Histologisch. In der Leber zahlreiche kreisrunde, nirgends konfluierende Herde nekrotischen Gewebes. Dieselben liegen intraacinös; die größten nehmen das Gebiet eines ganzen Acinus in Anspruch. Die nekrotischen Massen, im Hämatoxylin-Eosinpräparate braunrot, im van Gieson-Präparate gelbbraun, lassen in ihren zentralen Partieen außer einzelnen blaßgefärbten Leberzellkernen und einzelnen Leukocyten keine Zellstruktur mehr erkennen. Die der Peripherie der Herde angrenzenden Leberzellen sind stark fettig degeneriert. Die kleineren Herde

sind stärker mit einkernigen Leukocyten durchsetzt und kreisförmig umgeben von einem ziemlich breiten Rande einer undifferenzierten, fibrinähnlichen Masse, die sich in die umgebenden Kapillaren erstreckt, und welche im Hämatoxylin-Eosinpräparate rosenrot, im van Gieson-Präparate hellrot gefärbt erscheint. Die angrenzenden Leberzellen sind nicht komprimiert und zeigen, gleich wie das übrige Parenchym der Leber, keine pathologischen Veränderungen.

Im Ziehl-Neelsenschen Präparate erweisen sich die nekrotischen Herde erfüllt von dichten Haufen säurefester Bacillen, die in ihrer Lagerung noch den kapillaren Aufbau des veränderten Gebietes erkennen lassen. Auch in den angrenzenden Kapillaren liegen dieselben in dichten Haufen, durch die fibrinähnlichen Massen den Wänden derselben zugedrängt. Auch in einzelnen Zentralvenen liegen zahlreiche, säurefeste Bacillen.

Im abdominalen Fettgewebe finden sich zahlreiche Häufchen ziemlich großer, zum Teil eosinophil gekörnter Zellen mit großen, bläschenförmigen Kernen neben spärlicheren kleineren, polymorphkernigen Zellen. In den Zellanhäufungen liegen zahlreiche Tb.

Im Ovarium finden sich ausgedehnte, vom normalen Parenchym nur unscharf abgegrenzte, nekrotische Partieen. In denselben liegen zahlreiche Tb.

Aus der Impfstelle und aus einem Leberknötchen wurde je ein Tb.-Stamm gezüchtet von denselben kulturellen Eigenschaften, wie sie oben für den injizierten Stamm beschrieben wurden.

b) Mit einer 4 Wochen alten Eierkultur des aus der Lunge von Schlange 19 gewonnenen Stammes wurde infiziert:

1) Maus (M. 8), getötet nach 104 Tagen. Negativer Befund.

2) Meerschweinchen (M. 139), nach 104 Tagen eingegangen, hochgradig abgemagert. Die Organe sehr anämisch, ohne sonstige pathologische Veränderungen.

3) Kaninchen (K. 25), getötet nach 104 Tagen. An der Impfstelle ein lappiger, gelblicher, 2 cm breiter, mit zähem, weißem Brei gefüllter Sack, ebenso wie bei den mit der Impfstellenkultur geimpften Kaninchen. Im Brei mäßig zahlreiche, kurze bis lange, gekörnte, säurefeste Stäbchen. Einzelne pigmentierte vergrößerte Bronchialdrüsen. Im Strich vereinzelte, unförmliche, säurefeste Stäbchen.

Die histologische Untersuchung der inneren Organe ergab einen negativen Befund.

Ein mit dem Brei der Impfstelle subkutan infiziertes Meerschweinchen (M. 148) ging unter starker Abmagerung (von 510 auf 370 g) nach 22 Tagen ein und zeigte eine fibrinös hämorrhagische Impfstelle, einige stark vergrößerte und von gelblichen Herden durchsetzte mesenteriale Drüsen und graugelbliche Sprenkelung der kaum vergrößerten Milz. Kulturen aus der Impfstelle blieben bei Brutschrank- und Zimmertemperatur steril.

4) Ringelnatter (Schl. 36), nach 28 Tagen eingegangen. An der Impfstelle in hellergroßer Ausdehnung mit außerordentlichen Mengen von Tb. durchsetztes bröckeliges, verkästes Gewebe. Entlang der großen Gefäße durch die ganze Körperhöhle dichtstehende, eben sichtbare, bis hirsekorngroße, weiche, weiße Knötchen. Auch das Mesenterium und die seröse Umhüllung der peritonealen Organe von solchen Knötchen besetzt. Auf der Pleuraoberfläche bröckelige, weiche, zum Teil trans-

parent aussehende, leicht abstreifbare Auflagerungen. Die Leber braun und von großen, unregelmäßigen, meist heller gefärbten, meist die halbe Breite der Leber bis zum Sepimente einnehmenden Herden durchsetzt. Daneben an der Oberfläche glashelle, prominente Knötchen, die etwas größer sind als jene entlang der Gefäße. Die Niere von ähnlichen gelbbräunlichen Herden durchsetzt wie die Leber.

In allen pathologischen Produkten sehr zahlreiche, meist kurze und gut gefärbte, säurefeste, bei Gram-Färbung zum Teil mit schöner grampositiver Körnung versehene Stäbchen.

Auch im Herzblute einzelne extracellular gelegene Tb. Nur in den Auflagerungen auf der Pleuraoberfläche neben den Tb. reichlich lange, dicke, nicht säurefeste, sporenbildende Bacillen.

Histologisch: Leber. In den Kapillaren des unveränderten Lebergewebes zahlreiche, mittellange, gut gefärbte Tb. Viele derselben in Leukocyten und Sternzellen eingeschlossen.

Niere. Einzelne Venen angefüllt mit Tb.-haltigen Käsemassen. In mehreren Glomeruli einzelne Gefäßschlingen mit Tb. gefüllt. Das Fettgewebe des Abdomens durchsetzt von zahlreichen Bakterienarten.

Der Darminhalt enthält zahlreiche Bakterienarten, jedoch keine säurefesten Bacillen.

Aus der Impfstelle und einem miliaren Gefäßknötchen wurde je ein Stamm gezüchtet, welcher in seinen kulturellen Eigenschaften sich mit jenen aus Impfstelle und Leber von Schlange 35 und aus der Impfstelle und Lunge von Schlange 19 als vollkommen identisch erwies, so daß eine genauere Beschreibung dieser Stämme überflüssig erscheint.

Daß der aus der Injektionsstelle der mit menschlicher Tuberkulose geimpften Schlange 19 gezüchtete Stamm identisch ist mit dem aus der Lunge derselben Schlange gezüchteten Stamme, dafür spricht die vollkommene Uebereinstimmung der kulturellen und tierpathogenen Eigenschaften beider Stämme.

Beide wachsen feucht und schmierig, nur bei Zimmertemperatur, und bilden gelegentlich den charakteristischen Farbstoff in Nährboden und Kultur, verhalten sich für weiße Mäuse indifferent, töten Meerschweinchen unter Marasmus, aber ohne spezifische tuberkulöse Veränderungen, erzeugen bei Kaninchen eine gutartige, fast nur auf die Impfstelle beschränkte und in Ausheilung übergehende Tuberkulose und rufen bei Schlangen eine allgemeine miliare Tuberkulose hervor. Daß die mit Lungenemulsion der Schlange 19 geimpfte Schlange 33 nicht an Tuberkulose erkrankte, ist nicht verwunderlich, nachdem die Emulsion zur Befreiung von den Begleitbakterien Formaldehyddämpfen ausgesetzt worden war.

Die Uebereinstimmung der aus der Impfstelle und aus der Lunge der mit menschlicher Tuberkulose infizierten Schlange 19 gezüchteten Stämme ist einer der Gründe, welche sich dafür anführen lassen, daß nicht eine spontane, sondern eine Impftuberkulose vorlag. Als weitere Gründe hierfür lassen sich geltend machen: 1) die Verbreitungsart des tuberkulösen Prozesses; 2) der Umstand, daß außer der Impfstelle kein älterer tuberkulöser Herd als Ausgangspunkt der miliaren Ausbreitung gefunden werden konnte; 3) das Freibleiben der Leber, des Lieblingssitzes tuberkulöser Veränderungen bei Kaltblütern.

Wir schließen daher aus diesem Falle, daß der menschliche Tb. gelegentlich im Schlangenkörper haften und tuberkulöse Veränderungen erzeugen kann, bei gleich-

zeitiger dauernder und vollständiger Umwandlung seiner kulturellen und biologischen Eigenschaften in jene des Kaltblüter-Tb.

IV.

Die Ausgangsstämme für die beiden folgenden Versuchsreihen waren nicht typische, in der früher beschriebenen Weise konservierte Tb.-Stämme, sondern eigenartige spontan im Brutschranke aufgetretene Varietäten ursprünglich typischer menschlicher Tb.-Stämme. Unter Hunderten durch viele Generationen hindurch beobachteten, unter den verschiedensten Nährbodenverhältnissen gezüchteten Stämmen ist es uns nur diese beiden Male gelungen, eine so auffällige spontane Varietätenbildung zu beobachten. Dies spricht für die relative Seltenheit dieses Vorkommnisses, wie denn auch bei anderen Organismen vom Grundtypus stark abweichende spontane Varietätenbildungen nicht zu den alltäglichen Ereignissen gehören. Daß solche Varietätenbildungen aber vorkommen bei einem in seinen charakteristischen Merkmalen für absolut konstant gehaltenen Organismus, ist von großem biologischen Interesse. Es mag sein, daß manche der in der Literatur beschriebenen Tb.-ähnlichen Stäbchen Varietätenbildungen des menschlichen Tb. darstellen, wie z. B. der von M. Beck beschriebene, aus dem Tonsillarpfropf einer an Lungentuberkulose gestorbenen Frau gezüchtete, in seinem Verhalten dem Bacillus von Arloing und Courmont nahestehende Bacillus tuberculoides II; nur ist es nicht möglich, über diese Vermutung hinaus zu einer Gewißheit zu gelangen, wenn man nicht zufällig Gelegenheit hat, die Umwandlung wirklich typischer Stämme in solche Abarten zu beobachten. In letztere Kategorie gehört unseres Erachtens die Arloing-Courmontsche Modifikation, die sich keineswegs durch einen bestimmten Züchtungsmodus jederzeit erreichen läßt, sondern eben nur bei solchen Stämmen auftritt, welche eine vom Typus abweichende Variationsbreite besitzen. Arloing und Courmont gelang, wie Römer mitteilt, nur in etwa 50 Proz. der Stämme die Umzüchtung in die homogene Kultur. Auch Römer ist der Ansicht, daß es sich hier um eine künstliche Auslese solcher Tb. handelt, die von vornherein mehr Neigung zu der homogenen Form zeigen, weil es sonst nicht einzusehen wäre, warum in der Hand desselben Experimentators das eine Male die Umzüchtung der Tb. gelingt, das andere Mal nicht. Die folgenden beiden Beobachtungen sind daher deswegen von großem Werte, weil die Genese der beiden Varietäten aus typischen menschlichen Tb.-Stämmen sichergestellt ist. Auch für die vorliegende Frage der Anpassungsfähigkeit des menschlichen Tb. an den Kaltblüterorganismus sind die mitzuteilenden Varietätenbildungen von Interesse, da dadurch auch die im Vorstehenden mitgeteilten Befunde gelungener Anpassung und Variation dem Verständnisse nähergerückt werden.

Die eine dieser beiden Varietäten entstammt einer aus Sputum gewonnenen, durch Generationen auf Glycerinagar weitergezüchteten, typisch wachsenden und ursprünglich für Meerschweinchen pathogenen Laboratoriumskultur menschlicher Tuberkulose. Eine Mitteilung von Klein, wonach Tb. in sterilisierter Milch sehr rasch wachsen und eine beträchtliche Steigerung ihrer Virulenz erfahren sollen, gab Veranlassung, diese und 6 andere alte Laboratoriumskulturen durch mehrere Monate nicht mehr zu überimpfen, um sodann das weitere Wachstum unter dem

Einflusse sterilisierter Milch beobachten zu können. Keiner dieser Stämme war nach Ablauf von 5—6 Monaten auf Glycerinagar zum Wachstum zu bringen. Es wurde nun Milch in Eprouvetten 3 Tage hindurch je 1 Stunde im Dampftopf sterilisiert und von jedem der Stämme ein Bröckchen in die Milch gebracht und auf der Oberfläche derselben schwimmen gelassen und die Röhrchen sodann 8 Tage bei Brutschranktemperatur gehalten. Die Milch blieb unverändert. Dieser Versuch wurde mit sämtlichen 7 Stämmen an ein und demselben Tage vorgenommen und zu dem Versuche ein und dieselbe Milch verwendet. Nach 8 Tagen wurde von den auf der Milch schwimmenden Bröckchen, welche mittlerweile weich geworden und gequollen waren, auf Glycerinagar überimpft. Sechs dieser Stämme waren auch nach dieser Behandlung nicht mehr zum Wachstum zu bringen, während von dem ersterwähnten Stamme eine Tb.-Kultur von durchaus abweichenden Eigenschaften erhalten wurde. Es sei noch vorausgeschickt, daß es ausgeschlossen erscheint, die so erhaltene Kultur könne etwa von in der Milch vorhanden gewesenen säurefesten Stäbchen abstammen. Das scheint ausgeschlossen, weil zu allen Versuchen, wie erwähnt, ein und dieselbe Milch verwendet worden war und die anderen Röhrchen bei Ueberimpfung vollkommen steril blieben. Außerdem wurde von dem nach Milchpassage überimpfbaren Stamme eine so üppige Kultur nach 4 Tagen erhalten, daß es ganz unmöglich erscheint, daß in den dem zurückgeimpften Bröckchen und der Oese anhaftenden geringen Milchresten eine derartige Menge säurefester Milchbakterien enthalten gewesen sei, während in den anderen aus demselben Kolben von Mischmilch stammenden Röhrchen keine enthalten gewesen sein sollen. Die Vermutung, es handle sich um säurefeste Milchbakterien, wird außerdem dadurch widerlegt, daß die gewonnene Kultur nur bei Bruttemperatur wächst und keinen Farbstoff bildet, während es bekanntlich eine Eigenschaft aller bisher aus Milch und Butter gezüchteten sogenannten Pseudo-Tb. ist, auch bei Zimmertemperatur üppig zu wachsen und mehr oder weniger reichlich Farbstoff zu produzieren.

Die Eigenschaften dieser Kultur, die sich bisher nach 2-jähriger Beobachtung in ihren Wachstumsmerkmalen konstant erwiesen, sind folgende:

Agar: Weicher, feuchter, schmieriger, teils körniger, teils homogener Belag.

Glycerinagar: Bald feucht, bald trocken aussehender, bald mehr glatter, bald faltig-warziger, aber immer weicher, schmieriger Belag.

Somatose: Ziemlich gleichmäßiger, grauweißer, dünner, homogener, sehr weicher, schmieriger Belag.

Kartoffel: Wachstum gleich dem auf Glycerinagar.

Rinderserum: Weicher, butterartiger, grauweißer, homogener, ziemlich reichlicher Belag.

Schweineserum: Mäßig reichlicher, weicher, feuchter, schmieriger Belag.

Ei: Trocken aussehender körnig-krümeliger, aber weicher, weißer und weißgelblicher Belag.

Bouillon: Oberfläche Hautbildung, Haut weich, zerfließend; Bildung eines Bodensatzes. Die Bouillon bleibt klar.

Mikroskopisch: Große Variabilität der Form ohne erkennbare Abhängigkeit vom Nährboden oder vom Alter der Kultur. Es wurden gesehen alle Uebergänge von kurzen, plumpen bis langen, fädigen Stäbchen, bald ohne, bald mit schöner großer Körnung, zum Teil nicht säurefeste

Exemplare in denselben Formen. Das Wachstum findet ausschließlich bei Brutschranktemperatur, auch bei 41°, statt, und Züchtungsversuche bei Zimmertemperatur schlugen auch in der heißen Jahreszeit fehl.

Für Meerschweinchen erwies sich der Stamm nicht immer in gleicher Weise pathogen, und die Verschiedenartigkeit der Impfergebnisse scheint ebenfalls der Ausdruck zu sein für die Neigung des Stammes, sich in seinen biologischen Eigenschaften inkonstant zu verhalten.

Ein mit einer 2 Monate alten Glycerinkultur subkutan geimpftes 6 Monate altes Meerschweinchen (M. 149) ging nach 8 Tagen unter beträchtlicher Abmagerung (von 560 auf 440 g) ein. Die Impfstelle war in erbsengroßer Ausdehnung derb infiltriert, ihr Zentrum verkäst. Die Leber verfettet, die Milz klein und blaß. Im Herzblut und in der Milz keine Tb.

Ein mit einer 1 Monat alten Eierkultur subkutan geimpftes 6 Monate altes Meerschweinchen (M. 151) wurde nach 72 Tagen getötet. Gewichtszunahme 110 g. An der Impfstelle ein hellergroßes, vereitertes Infiltrat mit zahlreichen, gut gefärbten Tb. im Eiter. Im Mesenterium eine vergrößerte harte Drüse ohne Tb.

Ein mit derselben Menge derselben Kultur subkutan geimpftes 6 Monate altes Meerschweinchen (M. 153) ging nach 85 Tagen unter Abmagerung (620 auf 505 g) ein.

Autopsie: An der Impfstelle ein haselnußgroßer, glattwandiger Sack, mit hämorrhagischem Eiter gefüllt. In demselben zahlreiche, kurze, polymorphe Tb. Schwellung der axillaren, retrosternalen und bronchialen Lymphdrüsen. Die rechte Lunge von einer größeren Zahl erbsengroßer, oberflächlich gelegener, halbkugelig-prominenter Knoten durchsetzt, die am Durchschnitt aus einer sehr trockenen, harten, käsigen, ausschälbaren Masse bestehen. In der linken Lunge kleinere Knoten mit weicherem Inhalt. In der Umgebung der Knoten das Lungengewebe makroskopisch normal. Leber und Milz stark vergrößert und von unregelmäßigen größeren und kleineren graugelben Herden durchsetzt. Die übrigen Teile der Milz dunkelschwarzrot, trocken. Starker Ascites. Im Strichsafte aus den pathologisch veränderten Organen keine Tb. Hingegen wurde je eine Reinkultur von Tb. aus der Impfstelle und der Leber erzielt, welche ebenso atypisch wächst wie die Ausgangskultur, und derselben in jeder Hinsicht gleicht, auch in der Polymorphie ihrer bacillären Formen.

Zwei 2 Monate alte Kaninchen (K. 30 und 32) leben noch gegenwärtig 6 Monate nach der subkutanen Impfung, und haben von 760 resp. 840 g auf 2000 resp. 2100 g an Gewicht zugenommen. Die Impfstellen zeigen keine Veränderungen.

Ein drittes gleichalteriges Kaninchen (K. 31), mit derselben Menge derselben Kultur subkutan geimpft, ging nach 137 Tagen ein. Gewichtszunahme von 720 auf 1900 g. Die Impfstelle ulceriert, unter derselben ein walnußgroßer Absceß, welcher bis an die Pleura costalis reicht und sehr reichlich Tb. enthält. Serös-eiterige linksseitige Diplokokkenpleuritis. Im Ober- und Unterlappen der linken Lunge grauweiße, keilförmige Herde, die wie die vergrößerten weichen linken Axillardrüsen Diplokokken, aber keine Tb. enthalten.

Es schien interessant, diesen Stamm in unsere Versuchsreihe einzubeziehen, und dessen eventuelle Pathogenität für Kaltblüter festzustellen. Wir ließen auch zu diesem Versuche den verwendeten Stamm aus den angeführten Gründen einige Zeit bei Zimmertemperatur stehen.

Geimpft wurde eine Aeskulapschlange (Schl. 23) mit einer 4 Monate alten, 1 Monat bei Zimmertemperatur gestandenen Kartoffelagarkultur, subkutan.

Die Schlange ging ein nach 42 Tagen.

Autopsiebefund: An der Impfstelle ein kleiner, verkäster Herd mit bindegewebiger Umgebung. Im Käse außerordentlich zahlreich säurefeste Stäbchen. Innere Organe normal.

Aus der Impfstelle wurde ein Stamm gezüchtet, welcher in allen wesentlichen Eigenschaften mit dem Ausgangsstamme übereinstimmt: Wachstum nur bei Brutschranktemperatur, feuchte, schmierige Kulturen, mangelhaftes oder fehlendes Wachstum auf Serumnährböden und große Variabilität der Form der Bacillen.

Mit diesem Stamme wurden geimpft:

1) Maus (M. 14), lebt nach 10 Monaten, ging dann verloren.

2) Meerschweinchen (M. 145), mit einer 4 Wochen alten Kultur subkutan geimpft. Tod nach 19 Tagen. Impfstelle ulceriert. Daselbst ein kleiner eingedickter Käseherd. Eine markig geschwellte Axillardrüse, sonst negativer Befund.

In Strichpräparaten aus der Drüse und dem Herzblute keine Tb.

Ein zweites Meerschweinchen (M. 150), mit einer 8 Wochen alten Kultur subkutan geimpft, wurde nach 72 Tagen getötet, hat an Gewicht etwas zugenommen und zeigte an der Impfstelle in hellergroßer Ausdehnung eine mit dünnflüssigem Eiter gefüllte Höhle. Sonst bot es negativen Befund. Im Strichsafte aus dem Eiter wurde ein schlecht gefärbter Tb. gefunden; angelegte Kulturen blieben bei Zimmer- und bei Brutschranktemperatur steril.

Aus diesen letzten beiden fast negativen Impfergebnissen darf nicht geschlossen werden, der Stamm habe durch die Schlangenpassage seine Pathogenität für Meerschweinchen eingebüßt, da auch der Ausgangsstamm diesbezüglich ein sehr variables Verhalten zeigte.

Zur Lösung der Frage der Anpassung menschlicher Tb. an Kaltblüter trägt diese Versuchsreihe nichts bei; das Interesse liegt vielmehr, wie auseinandergesetzt, in der Eigenartigkeit des Stammes selbst, d. h. in der von uns beobachteten spontan aufgetretenen Veränderung seiner kulturellen und biologischen Eigenschaften.

V.

Der Tb.-Stamm für die folgende Versuchsreihe sowie die zweite der erwähnten beiden Varietätenbildungen wurden gewonnen aus der Lunge eines in unserer Anstalt nach 3-monatlichem Aufenthalte am 9. Mai 1905 verstorbenen 53-jährigen Kaufmannes J. Sk. Patient war ein schwerer Potator.

Die Obduktion, 4 Stunden post mortem vorgenommen, ergab: Disseminierte miliare und konglomerierte Tuberkulose der linken Lunge und des rechten Mittel- und Unterlappens mit lobulär-pneumonischen Herden in der Umgebung der Konglomerattuberkel. Chronisch fibröse, bronchiektatisch kavernöse Phthise des rechten Oberlappens. Markige Schwellung der Bronchialdrüsen. Myodegeneratio cordis mit exzentrischer Hypertrophie beider Ventrikel. Beginnende Lebercirrhose. Chronischer Milztumor.

Kulturen wurden angelegt aus zwei von Konglomerattuberkeln durchsetzten pneumonisch infiltrierten Herden. Aus dem einen Herde wurde eine Reinkultur auf Somatoseagar, aus dem zweiten auf Somatoseagar

und Ei gewonnen. Traubenzuckeragar und Hirnagar waren in beiden Fällen steril geblieben.

Zur Weiterzüchtung dienten die Eikultur aus dem einen und die Somatosekultur aus dem anderen Herde.

Die Eikultur war auf Agar, Glycerinagar und Rinderserum nicht zum Wachstum zu bringen. Auf Somatoseagar, Kartoffelagar und Ei typisches trockenes, warzig-krümeliges Wachstum; auf Ei ziemlich reichlich, auf den übrigen Nährböden ziemlich spärlich. Auf Ei mitunter gelbrötliche Warzen.

Die Kulturen enthalten säurefeste, sehr kurze, dunkel gefärbte, neben längeren blassen, die Somatoseagarkulturen sehr lange, gekrümmte, dunkel gefärbte Stäbchen. In älteren Kulturen deutliche Körnung.

Der Stamm wächst nur bei Brutschranktemperatur und ist für Meerschweinchen sehr pathogen.

Ein subkutan geimpftes, 2 Monate altes Meerschweinchen (M. 142) ging nach 23 Tagen unter hochgradiger Abmagerung (von 220 auf 125 g) ein, und zeigte bei der Autopsie die Impfstelle in kronengroßer Ausdehnung verkäst, die axillaren, mediastinen und bronchialen Lymphdrüsen multipel geschwellt und verkäst. Pericard und Lunge umgeben und untereinander verlötet durch ein dickes, sulziges, am Durchschnitte von kleinsten grauen Knötchen durchsetztes Gewebe. Lunge, Milz und Leber makroskopisch frei, trocken, anämisch. Aus der Impfstelle und einer axillaren Drüse wurden je eine Reinkultur von Tb. gezüchtet, welche vollkommen typisch und nur bei Bruttemperatur auf allen Nährböden wuchsen.

Ein Kaninchen (K. 28), mit der 9. Generation einer auf Ei weitergezüchteten 4 Wochen alten Kultur subkutan geimpft, wurde nach 343 Tagen getötet. An der Impfstelle fand sich ein abgesackter Eiterherd, im übrigen bot es einen negativen Befund. Aus dem Eiter angelegte Kulturen auf Somatoseagar und Rinderserum waren nach $3^1/_2$ Wochen steril, auf Ei wuchsen in derselben Zeit mehrere runde, halbkugelige, opak weiße, sehr weiche Kolonieen von säurefesten Stäbchen.

Der aus dem zweiten Lungenherde auf Somatoseagar gezüchtete Stamm verhielt sich in der Originalkultur vollkommen typisch, indem er flache, unregelmäßige, trockene, grauweiße, schuppige Auflagerungen bildete. Die Weiterimpfung auf Somatoseagar mißlang, hingegen wuchs bei Ueberimpfung auf Hirnagar eine Kultur, welche weiterhin auch auf allen anderen Nährböden ein vom Typus vollkommen abweichendes Verhalten zeigte.

Hirnagar: schon nach 4 Tagen ein ziemlich reichlicher, schmieriger, feuchter, teils glatter, teils faltiger grauweißer Belag.

Agar: eine faltige, trocken aussehende, weiche, schmierige Haut.

Glycerinagar: feuchter und breiiger als auf Agar.

Kartoffelagar ebenso.

Ei: feuchter, glänzender, körniger, etwas gelblicher Belag.

Rinder- und Schweineserum: spärliches Wachstum in Form eines homogenen, grauweißen, sehr feuchten Belages.

Bouillon: weiche, zerfließliche Haut an der Oberfläche, Bildung eines Bodensatzes; die Bouillon wird nicht getrübt.

Der Stamm wuchs auch bei Zimmertemperatur über 15° C in derselben Art und Weise wie im Brutschranke, aber spärlicher, hingegen üppig im Brutschranke auch bei 41°. Die Kulturen enthielten

kurze und lange, meist sehr schlanke und dünne, gerade und krumme, zum Teil gekörnte, überwiegend blaß gefärbte, säurefeste Stäbchen. Auf Ei und Somatoseagar viele nicht säurefeste Stäbchen neben solchen, welche bei Karbolfuchsin-Methylenblaufärbung blaue Körner in blaßroten Stäbchen enthielten.

Ein mit diesem Stamme geimpftes 2 Monate altes Meerschweinchen (M. 141) ging nach 22 Tagen unter hochgradiger Abmagerung (von 260 auf 180 g) ein. Die Impfstelle war in großer Ausdehnung verkäst. Makroskopisch sonst keine Veränderungen.

Aus der Impfstelle wurde auf Somatoseagar eine Reinkultur von Tb gezüchtet, welche in derselben Weise wuchs wie der injizierte Stamm.

Ein Kaninchen (K. 27) wurde nach 308 Tagen getötet und bot vollständig negativen Befund.

Weitere Tierversuche mit diesem Stamme, insbesondere auch an Kaltblütern, sind einer späteren Arbeit vorbehalten.

Dieser Stamm, sowie der vorher besprochene (IV) ähneln in der Art ihres Wachstumes auf künstlichen Nährböden dem Vogeltb. Bei beiden Stämmen wurde das Wachstum bei 41° geprüft, doch wuchsen bei dieser Temperatur beide Stämme, ebenso wie die typischen Menschentb. gerade so gut wie bei 37°. Das bei Zimmertemperatur beobachtete Wachstum des letztbesprochenen Stammes (V) trennt denselben jedoch von den typischen Tb. avium. Versuche an Hühnern wurden mit den beiden Stämmen noch nicht angestellt. Es sei an dieser Stelle erwähnt, daß feuchtes, an Hühnertb. erinnerndes Wachstum bei Menschentb. schon des öfteren beobachtet wurde (Kitasato, Vagedes), doch verhielt sich im Gegensatze zu unseren Stämmen dieses Merkmal niemals konstant, sondern verschwand wieder bei Weiterimpfungen.

Zu Impfversuchen an Kaltblütern verwendeten wir den typisch wachsenden Stamm, da es von Interesse schien, zu prüfen, ob dieser Stamm, der seine Variabilität durch die Bildung der eben beschriebenen Brutschrankvarietät und die Abänderung nach Kaninchenpassage (weiches Wachstum) bekundet hatte, nicht auch im Kaltblüterorganismus Modifikationen seiner Eigenschaften zeigen würde.

Geimpft wurden mit einer 18 Tage alten Eikultur des typisch wachsenden Stammes:

1) Blindschleiche (Bl. 6). Tod nach 22 Tagen.

Entsprechend der Impfstelle an der inneren Bauchwand, ebenso im Mesenterium verstreut, eiterig aussehende Auflagerungen, die außer spärlichen zelligen Elementen vorwiegend eine fibrinähnliche Masse, und ziemlich zahlreiche, kurze, gut gefärbte, säurefeste Stäbchen enthalten.

Aus dem Eiter der mesenterialen Auflagerung wurde bei Brutschranktemperatur ein Stamm gezüchtet, welcher auf Somatoseagar und Ei typisches trockenes Wachstum zeigte, bei Zimmertemperatur nicht gedieh. Der Stamm ist leider infolge späterer Verunreinigung für weitere Versuche verloren gegangen.

2) Ringelnatter (Schl. 24). Subkutan geimpft.

Tod nach 10 Tagen. An der Impfstelle körnige Auflagerungen unter der Schuppenhaut, mit zahlreichen kurzen, säurefesten Stäbchen in denselben. Die Leber an einzelnen Stellen gelblich gesprenkelt, im Strichsafte spärliche, säurefeste Stäbchen. Mikroskopisch in der fettig infiltrierten Leber einzelne Tb.-Haufen ohne Reaktion der Umgebung.

Aus der Impfstelle wurde ein auf allen Nährböden vollkommen typischer und nur bei Brutschranktemperatur wachsender Tb.-Stamm gezüchtet, welcher ein Meerschweinchen (M. 146) nach 15 Tagen an hoch-

gradiger intrathorakaler Tuberkulose tötete, bei einer Maus (Ms. 15) und einer Schlange (Schl. 34) keinerlei pathologische Veränderungen erzeugte. Die Schlange ging nach 33 Tagen bei vollkommen negativem Autopsiebefunde ein.

Der Stamm wurde also ohne Aenderung seiner Eigenschaften aus dem Schlangen- resp. Blindschleichenkörper wieder rückgezüchtet, und unsere Vermutung, daß der Stamm, welcher sich im Brutschrank als variabel erwiesen hatte, möglicherweise auch im Schlangenkörper Abänderungen seiner Eigenschaften erfahren würde, wurde durch das Experiment nicht bestätigt. Die Bedeutung des Stammes liegt also wie jene des vorhergehend besprochenen (IV) in seiner spontanen Varietätenbildung. Immerhin erscheint bemerkenswert die wenn auch geringe Pathogenität desselben für Schlange und Blindschleiche.

Um uns aus eigener Erfahrung ein Bild über den klinischen Verlauf und die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei Schlangen nach subkutaner Impfung mit Kaltblütertb. zu bilden, haben wir eine Reihe derartiger Impfversuche unternommen. Von den Originalstämmen stammte einer aus dem Králschen Institute und wurde als Fischtb. von dort bezogen, den zweiten verdanken wir der Liebenswürdigkeit des k. k. Tierarzneiinstituts in Wien, woselbst er von einem zufällig in einem Karpfen aufgefundenen tuberkulösen Herde gezüchtet worden war. Beide Stämme zeigen ein vollständig übereinstimmendes Wachstum und waren bei wiederholten, diesbezüglichen Versuchen auf verschiedenen Nährböden bei Brutschranktemperatur niemals zu einem Wachstum zu bringen.

Auf allen verwendeten Nährböden (Agar, Glycerinagar, Traubenzuckeragar, Somatoseagar, Kartoffelagar, Hirnagar, Rinder-, Schweine-Serum und Ei) wachsen beide Stämme in Form eines weißen, sehr feuchten, bald etwas weniger feuchten Belages von butterartiger Konsistenz. Das Wachstum ist ziemlich spärlich auf Serumnährböden und Somatoseagar, auf den übrigen Nährböden üppig. Namentlich auf Ei- und Serumnährböden tritt sehr häufig, aber nicht konstant, oft schon nach 2—3 Wochen, oft erst viel später, eine bräunliche oder violettbraune Verfärbung des Nährbodens und später auch der Kultur auf, welche immer dunkler bis schwarz-violett wird. Mikroskopisch erweisen sich die Bacillen fast ausnahmslos als kurze, gerade, gleichmäßig gut gefärbte Individuen.

Mit dem vom Králschen Institute bezogenen Fischtuberkulosestamm war ein Karpfen aus unserem Teiche subkutan infiziert worden. Exitus nach 4 Monaten. Es fanden sich kleine Knötchen in den parenchymatösen Organen, besonders in Leber und Milz, ebenso im Peritoneum; die Darmschlingen verklebt. Im Strichsaft der Milz zahlreiche Tuberkelbacillen in Haufen, auch intracellular gelegen. Aus der Milz wurden Tb. in Reinkultur gezüchtet, mit den oben beschriebenen Wachstumseigenschaften.

Mit diesem letzteren Stamme wurde eine Ringelnatter (Schl. 2) subkutan infiziert, welche nach $3^1/_2$ Monaten einging. Die Milz war fast zum größten Teile in eine käsig nekrotische Masse verwandelt, daneben disseminierte kleinste Knötchen in allen Organen und im adventitiellen Gewebe der Gefäße. Die Impfstelle in weiter Ausdehnung verkäst. In den Knötchen massenhafte Tb. Aus der Leber wurde der Stamm in Reinkultur wiedergewonnen.. Eine mit diesem letzten Stamme subkutan infizierte Zornnatter (Schl. 3) ging nach 26 Tagen ein. Die Impfstelle verkäst und generalisierte miliare Tuberkulose. Im Strichsafte der kleinen

Knötchen zahlreiche ziemlich lange Tb. Aus der Leber wurde der Stamm in Reinkultur wieder gezüchtet und mit demselben eine Ringelnatter (Schl. 21) subkutan geimpft. Sie ging nach 29 Tagen ein. Die Impfstelle war in weiter Ausdehnung verkäst. Das Peritoneum und die Leber von zahlreichen kleinsten Knötchen durchsetzt, daneben in der Leber auch größere, grau-weiße Herde. Im Strichsafte der Knötchen massenhafte Tb., in der Leber zum Teil intracellular gelegen. In der Leber außerdem nicht säurefeste lange, dicke Bacillen.

Mit der Leberemulsion dieser Schlange wurde eine Ringelnatter (Schl. 30) subkutan geimpft. Tod nach 79 Tagen. Impfstelle in großer Ausdehnung bis zur inneren Bauchwand verkäst. Im Peritoneum und ebenso im retroperitonealen und retropleuralen Gewebe zahlreiche ganz kleine, teils größere bis stecknadelkopfgroße, weiche Herde; ebenso im adventitiellen Gewebe der Bauchgefäße. Leber und Milz makroskopisch frei. Die Lunge von zahlreichen kleineren und größeren verkästen Herden durchsetzt, ebensolche an der Oberfläche des Herzens. In allen Herden äußerst zahlreiche Tb. mit allen Uebergängen von sehr kurzen bis langen fadenförmigen Gebilden.

Mit Rücksicht darauf, daß unsere Versuche mit menschlichen Tuberkelbacillen ausschließlich an Schlangen und Blindschleichen unternommen wurden, wollen wir hier von einer ausführlichen Mitteilung der Impfergebnisse bei Molchen, Fröschen und Fischen, welche mit unseren Kaltblüterstämmen vorgenommen wurden, absehen und uns auf die Bemerkung beschränken, daß sie im großen und ganzen dieselben Befunde ergaben.

Ebenso können wir uns bezüglich der histologischen Untersuchungen kurz fassen, da die Veränderungen übereinstimmen mit den von Küster ausführlich beschriebenen, und ebenso mit den von uns erhobenen Befunden bei einem Teile der mit Menschentuberkulose geimpften Schlangen. In allen Fällen charakterisieren sich die histologischen Veränderungen durch folgende Merkmale:

Durch das massenhafte Vorkommen von Tb. innerhalb der tuberkulösen Herde, und wohl als Folge der außerordentlichen Vermehrung der Bacillen durch das Ueberwiegen nekrotischer Vorgänge und das Zurücktreten proliferierender Prozesse, und endlich durch das seltene Vorkommen von Riesenzellen (Lubarsch), welche wir einmal beobachten konnten. In der Leber findet man oft ausschließlich Nekrose. Häufig liegen derselben mykotische Kapillarembolieen mit intraacinösem Sitz zu Grunde. Oft findet man auch Tuberkelbacillen in großer Menge ohne Veränderungen des Gewebes, daneben kommt es sowohl innerhalb der Leber, häufiger in Knötchen außerhalb derselben (Lunge, Bindegewebe, Mesenterium, Niere) zu zirkumskripten Zellanhäufungen, mit und ohne zentraler Nekrose, welche Aehnlichkeit mit Epitheloidzellentuberkeln darbieten.

Daß reine primäre Nekrose als Folge der tuberkulösen Infektion nicht etwa eine ausschließliche Eigentümlichkeit der Kaltblütlertuberkulose darstellt, sondern daß auch bei Menschen und bei höheren Säugetieren, sowohl bei boviner als auch bei humaner Infektion, die Tuberkulose ausschließlich unter diesem Bilde verlaufen kann, beweisen einige in der Literatur mitgeteilte Beobachtungen, die ihrer Wichtigkeit wegen hier ausführlicher mitgeteilt werden mögen.

Tendeloo beschreibt einen Fall von allgemeiner herdförmiger, primärer, tuberkulöser Nekrose bei einer 40-jährigen Frau nach höchstens 6-tägiger Erkrankung. In den Lungen fanden sich gleichmäßig zerstreute, grau-weißliche, unscharf begrenzte Herdchen, die mikroskopisch

aufgebaut waren aus Lungenbläschen mit einem zelligen Inhalt (abgehobenen Epithelzellen und vereinzelten weißen und roten Blutkörperchen) und flüssigem oder geronnenem Exsudat, und aus Lungenbläschen ohne solches. Die ersteren sind mitsamt ihrem Inhalt vollkommen oder teilweise verkäst, es gibt aber auch solche, deren Epithelzellen chromatinreiche Kerne besitzen. Die lufthaltigen, vollkommen oder fast exsudatlosen Lungenbläschen sind ebenfalls ganz oder zum Teil nekrotisch. In dem nekrotischen Gewebe liegen zahlreiche Tb.

„Es handelt sich hier", sagt Tendeloo, „offenbar keineswegs um eine Verkäsung von neugebildetem tuberkulösen Gewebe, wie man das im Tuberkel sieht. Und während es ferner Lungenbläschen in diesen Herdchen gibt, die mitsamt deren intraalveolarem Exsudat verkäst sind, kommen andere vor, die jeglichen intraalveolaren Exsudats entbehren, und deren nekrotische Wände auch keine Kennzeichen von Exsudation aufweisen. Dieses Gewebe ist sofort, ohne voraufgehende Veränderung der Nekrose anheimgefallen, es ist hier eine primäre tuberkulöse Nekrose aufgetreten."

Eine solche primäre, sofort nach der Einwirkung des Tuberkelbacillus entstehende Nekrose hat Tendeloo auch bei Kaninchen innerhalb zweier Tage auftreten sehen nach Einspritzung von gelöstem Kavernenauswurf unmittelbar in die Lunge.

Von besonderem Interesse in Bezug auf diese Frage scheinen uns die von Dungern an Affen bei subkutaner·tuberkulöser Infektion erhobenen Befunde zu sein.

„Alle geimpften Gibbons, die nicht vorzeitig zu Grunde gingen, starben nach 35—65 Tagen an schwerster Tuberkulose, und zwar 5 mit Perlsuchtbacillen nach 35—65 Tagen und 3 mit menschlichen Tuberkelbacillen nach 37—63 Tagen. Die Sektion zeigt in allen Fällen eine allgemeine Verbreitung der Tuberkelbacillen auf dem Lymph- oder Blutwege. Am stärksten sind immer Milz und Leber ergriffen. Es handelt sich hier nicht um echte Tuberkel, sondern um sehr dicht stehende nekrotische Herde, die aus zerfallenen Zellen und spärlichen Leukocyten bestehen und besonders in ihrer Mitte große Mengen von Tuberkelbacillen enthalten. Entzündliche Erscheinungen und Riesenzellen im umliegenden Parenchym fehlen meist völlig. Man gewinnt den Eindruck, daß es sich um einen sehr akuten Prozeß gehandelt hat, bei dem die Giftwirkung der massenhaft zugeführten Bacillen zum Absterben der betreffenden Zellen geführt hat. In Uebereinstimmung mit dieser Auffassung zeigten die Gibbons auch wochenlang nach der Infektion gar keine Störung des Allgemeinbefindens, sie erkrankten erst kurz vor dem Tode."

Uns scheint nicht so sehr, daß die Giftwirkung der massenhaft zugeführten Bacillen (Dungern) die Ursache der primären Nekrose sei, da dieselbe sonst auch bei den gewöhnlichen Versuchstieren, abgesehen von deren spontaner Tb. (Koch), viel häufiger in Erscheinung treten müßte, da die Menge des Infektionsmateriales die von Dungern verwendete Dosis von 0,01 g subkutan sehr häufig erreicht und sogar übersteigt. Wir glauben, daß in den Fällen reiner primärer Nekrose bei Kalt- und Warmblütlern der enormen Vermehrung der zugeführten Bacillen und der dadurch bedingten gesteigerten Giftwirkung eine Hauptrolle zukommt, denn in allen derartigen Fällen, sowohl bei Kalt- wie bei Warmblütlern geht mit dem histologischen Bilde der Nekrose konstant eine außerordentliche Menge von Tb. im nekrotischen Gewebe einher.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse und Schlußbetrachtungen. Wenn auch säurefeste Bacillen im Kaltblütler rein

saprophytisch gedeihen können, so geht es doch nicht an, alle Tb.-ähnlichen Stäbchen der Kaltblütler als Saprophyten zu bezeichnen. Es gibt echte Kaltblütlertuberkelbacillen, welche spezifische Veränderungen hervorrufen, entweder chronisch tuberkulöse Herde erzeugen oder unter akuter, allgemeiner miliarer Tuberkulose zum Tode des Tieres führen. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen kennzeichnen sich als solche spezifischer Natur, zeigen jedoch gegenüber dem gewöhnlichen Bilde der Warmblütlertuberkulose einige bemerkenswerte Unterschiede. Diese liegen 1) in dem meist außerordentlich reichlichen Auftreten von Tb. innerhalb der tuberkulösen Herde, 2) in dem Ueberwiegen nekrotisierender Vorgänge und dem Zurücktreten proliferierender Prozesse, insbesondere in dem seltenen Auftreten von Riesenzellen.

Dieselben pathologischen Merkmale fanden sich auch in jenen Fällen, wo es gelang, Tb. menschlicher Herkunft zu finden, welche sich im Schlangenkörper zu vermehren vermochten, und sich für denselben als pathogen erwiesen. Daß die meist vorhandenen Unterschiede in dem Bilde der Warm- und Kaltblütlertuberkulose nicht essentieller Natur sind, und nicht berechtigen, die Veränderungen der Kaltblütlertuberkulose als nicht spezifisch tuberkulöse zu bezeichnen, das beweisen die zur Beobachtung kommenden Uebergänge, indem einerseits auch bei Kaltblütlern sämtliche Komponenten des tuberkulösen Prozesses vereint vorhanden sein können, und anderseits, wie namentlich die Versuche von Dungern und auch der von Tendeloo beschriebene Fall beweisen, mitunter auch beim Menschen und bei Affen die nekrotisierende Komponente des tuberkulösen Prozesses verbunden mit außerordentlicher Vermehrung von Tb. so ausschließlich vorhanden sein kann, wie man es zumeist nur in den Organen, besonders der Leber tuberkulöser Kaltblütler sieht.

Es geht aus unserer Versuchsreihe mit Sicherheit hervor, daß gelegentlich auch Tb. menschlicher Herkunft auf den Kaltblütlerorganismus pathogen wirken können. Schon die Häufigkeit, mit der käsige Veränderungen an der Impfstelle bei subkutaner Infektion von Schlangen beobachtet werden, ist als ein, wenn auch geringer Grad von Pathogenität aufzufassen. Daß dieselbe mitunter eine beträchtliche Steigerung erfahren, und zu einer generalisierten Tuberkulose des Versuchstieres führen kann, beweisen unsere Reptilienversuche I—III. Die Tuberkelbacillen menschlicher Herkunft, welche in ihrer hohen Pathogenität für Schlangen und Blindschleichen eine von der weitaus überwiegenden Mehrzahl ihrer Art abweichende Eigenschaft besitzen, lassen diese biologische Variation nicht immer auch in einer wesentlichen Aenderung ihrer kulturellen Eigenschaften bemerken.

Es können die wichtigsten kulturellen Wachstumseigenschaften beibehalten werden, insbesondere die auf die Brutschranktemperatur angewiesene Vermehrungsfähigkeit und die trockene Beschaffenheit der Kultur. So verhielt es sich bei Fall I; aber auch dieser Stamm läßt durch seine nach der Schlangenpassage gewonnene Fähigkeit auf Agar ohne Glycerinzusatz zu wachsen eine bemerkenswerte Abweichung von dem normalen Verhalten erkennen. Es kann jedoch die Anpassung so weit gehen, daß auch die auffälligeren Eigenschaften der menschlichen Tb. eine Abänderung erfahren, wie die Beschränkung des Wachstums auf Brutschranktemperatur und die trockene Form des Wachstums. Im Falle II ging

nur die erstere Eigenschaft verloren, und der Stamm, welcher nur mehr bei Zimmertemperatur gedeiht, zeigt im übrigen das für Menschentb. typische warzig-krümelige Wachstum. Allerdings läßt auch das morphologische Verhalten der Kultur eine Annäherung an die Eigenschaften des Kaltblütlertb. darin erkennen, daß der Stamm auch auf Agar ohne Glycerinzusatz wächst und die den Kaltblütlertb. eigene braun-violette Verfärbung des Nährbodens und der Kultur zu erzeugen vermag. Einen vollständigen Uebergang aller kulturellen Merkmale menschlicher Tb. in jene der Kaltblütlertb. zeigt Fall III, welcher nach Schlangenpassage in jeder Hinsicht die typischen Wachstumseigenschaften der bisher bekannten Kaltblütlertb. zeigt (Wachstum bei Zimmertemperatur, feuchte schmierige Kultur, Wachstum auch auf Agar ohne Glycerinzusatz, braunviolette Farbstoffbildung). Entsprechend der kulturellen Variation ist auch eine solche der pathogenen Eigenschaften zu beobachten. Stamm I behielt mit seinen im allgemeinen typischen Wachstumseigenschaften auch die Pathogenität für Meerschweinchen bei. Der bei Zimmertemperatur jedoch trocken wachsende Stamm II hat seine Pathogenität für Meerschweinchen verloren, bezüglich seines Verhaltens gegenüber Kaltblütlern können wir auf Grund eines negativen Versuches noch nichts Sicheres aussagen. Stamm III, welcher sich kulturell wie ein Kaltblütlertb. verhält, zeigt hochgradige Pathogenität für Schlangen, ist für Meerschweinchen nicht pathogen und ruft bei Kaninchen ausgebreitete käsige Nekrose der Impfstelle hervor.

Ob auch ohne Einhaltung unserer Versuchsanordnung, d. h. auch bei Verwendung junger Kulturen vom Brutschrank weg, sich Tb.-Stämme finden ließen, welche sich für Reptilien pathogen erweisen und durch diese Tierpassage kulturell variieren, ist bislang noch fraglich. Wir selbst haben diesbezügliche Versuche, Fall V ausgenommen, noch nicht vorgenommen, und die in der Literatur beschriebenen Experimente scheinen uns nicht beweiskräftig, da, wie eingangs bemerkt, sich nur bei subkutaner Impfung einwandsfreie Ergebnisse erzielen lassen.

Von besonderer Wichtigkeit für die theoretische Beurteilung der Frage der Umwandlung einer Tb.-Art in die andere ist die von uns durch zwei Stämme (IV und V) belegte Tatsache, daß auch spontan im Brutschrank gelegentlich Varietätenbildungen des menschlichen Tb. vorkommen können, die sich bei Weiterimpfungen als konstant erweisen und ihre vom Typus abweichenden Eigenschaften auf allen Nährböden festhalten.

Die mitgeteilten Befunde stehen in vollem Gegensatze zu der Lehre der Konstanz der Merkmale der uns bekannten Tb.-Arten. Von der Kochschen Schule wird dieser Standpunkt bisher selbst für so nahe verwandte, in ihren kulturellen Merkmalen überhaupt nicht scharf zu differenzierende Arten, wie der Typus humanus und bovinus, strenge aufrecht gehalten. Wenn auch von Vielen ein gemeinsamer Ursprung derselben angenommen wird und ihr jetziges differentes tierpathogenes Verhalten als das Resultat der Anpassung an die betreffende Tierart bezeichnet wird (z. B. Baumgarten), so werden doch die jetzt durch Anpassung an bestimmte Wirtsorganismen differenzierten Arten als invariable Arten aufgefaßt. Behring und seine Schule jedoch fassen die drei Vertreter der für Warmblütler pathogenen Tb. (Typus humanus, bovinus et avium) nicht als streng differenzierte, konstante Arten auf, sondern als eine Art, welche je nach dem Wirtsorganismus, aus dem

sie gezüchtet wurde, sich in ihren pathogenen und auch kulturellen Eigenschaften in gewissen Grenzen variabel erweisen kann. Ohne an diesen beiden Ansichten, welche die Warmblütertb. betreffen und die ganze gegenwärtige Streitfrage der Beziehungen zwischen menschlicher und Rindertuberkulose beherrschen, hier Kritik üben zu wollen, steht doch so viel fest, daß dieser Gruppe von Tb. gegenüber die Kaltblütlertb. eine besondere, in ihren kulturellen und biologischen Eigenschaften streng differenzierte Art darstellen. Wenn die Vertreter der Konstanz der Tb.-Arten schon die Möglichkeit der Umwandlung der einen Warmblütlertb.-Art in die andere bestreiten, so ist es erklärlich, daß von dieser Seite die Versuche, welche die Möglichkeit der Umwandlung menschlicher Tb. in solche mit den Eigenschaften der Kaltblütlertb. zu ergeben schienen, eine um so schroffere Ablehnung erfahren haben, zu der sowohl theoretische Voraussetzungen als auch anfechtbare Versuchsanordnungen beigetragen haben dürften. Was die Versuchsanordnung der bisherigen einschlägigen Experimente betrifft, so haben wir selbst eingangs die Mängel derselben hervorgehoben und glauben dieselben bei unseren Versuchen tunlichst vermieden zu haben. Hinsichtlich der theoretischen Voraussetzung der Konstanz der Tb.-Arten, welche, wenigstens soweit Warmblütlertb. einerseits, Kaltblütlertb. andererseits in Betracht kommen, bisher nicht erschüttert ist, erfordern unsere kontradiktorischen Resultate eine Erklärung.

Jedenfalls geht aus der großen Zahl unserer negativen Uebertragungsversuche hervor, daß eine Umwandlung von Artmerkmalen des menschlichen Tb. in jene des Kaltblütlertb. auch unter den voraussichtlich günstigsten Bedingungen nur in den seltensten Fällen eintritt, und es irrig wäre, aus den vereinzelten positiven Ergebnissen einer großen Versuchsreihe den allgemeinen Schluß zu ziehen, es lasse sich jeder Stamm menschlicher Tb. durch Kaltblütlerpassage in einen solchen vom Typus der Kaltblütlertb. überführen. Wir müssen im Gegenteil auch auf Grund unserer Experimente daran festhalten, daß die menschlichen Tb. und die Kaltblütlertb. als gut charakterisierte und im allgemeinen gegenseitig streng konstante Arten aufzufassen sind. In den wenigen positiven Fällen müssen offenbar besondere, den Stämmen eigene, unbekannte Verhältnisse vorgelegen haben, welche zu diesem Resultate führten. Wir glauben nicht, dasselbe als das Ergebnis einer gelungenen allmählichen Anpassung bezeichnen zu dürfen. Dagegen sprechen drei Gründe:

Erstens würden solche positive Resultate keine so große Seltenheit darstellen; zweitens würden die durch Anpassung erworbenen Eigenschaften bald wieder verloren gehen, sobald die durch Anpassung abgeänderten Tb. auf einem anderen differenten, sei es toten oder lebenden Nährboden mit Erfolg angepaßt werden, während sich unsere Arten unter allen Bedingungen konstant erwiesen; drittens wäre zu erwarten, daß durch die Anpassung an eine ganz bestimmte Tierart sämtliche anpassungsfähigen Stämme in ihren Artmerkmalen in gleicher Weise variieren würden, wohingegen von unseren drei, durch Kaltblütlerpassage modifizierten Stämmen jeder in anderer Weise vom ursprünglichen Typus abweicht. Um nur die kulturellen Eigenschaften zu erwähnen, wächst:

Stamm I. Typisch, trocken, nur im Brutschranke, aber auch auf Agar ohne Glycerinzusatz.

Stamm II. Typisch, trocken, nur bei Zimmertemperatur, auch auf Agar ohne Glycerinzusatz.

Stamm III. Feucht, mit allen Merkmalen der Kaltblütlertb.

Dieselben drei Gründe, welche gegen die allmähliche Anpassung sprechen, sind uns ausschlaggebend für die Annahme, daß wir es hier mit Mutationen im Sinne der Theorie von de Vries zu tun haben. Eine wesentliche Stütze erfährt diese Annahme durch den Umstand, daß wir bei zwei Tb.-Stämmen (Stamm IV und V) Abänderungen von Artmerkmalen beobachten konnten, für welche die Erklärung einer allmählichen Anpassung naturgemäß wegfällt, da keine wesentliche Aenderung ihrer äußeren Bedingungen stattgefunden hatte. Bezüglich des Stammes IV dürften wir auch auf Grund seines so außerordentlich variablen pathogenen Verhaltens Meerschweinchen gegenüber mit der Möglichkeit rechnen, daß derselbe sich in einer Mutationsperiode befindet. Aus analogen Gründen, der wechselnden Pathogenität ein und derselben Tierart gegenüber, hat Koch für eine Gruppe von Trypanosomen die Annahme gemacht, daß dieselbe sich im Stadium der Mutation befände.

Wir nehmen also auf Grund der Mutationslehre, bezüglich deren experimenteller Begründung auf dem Gebiete der Botanik wir auf das Originalwerk von de Vries verweisen, an, daß sich unter den zu unseren Experimenten verwendeten Stämmen zufälligerweise solche befanden, welche Individuen beherbergten, die aus unbekannten Gründen die Fähigkeit besaßen, in den wesentlichsten ihrer Merkmale in der Richtung der Kaltblütlertb. abzuändern, um, wie es dem Charakter mutierter Arten entspricht, in ihrer neuen Form konstant zu bleiben. Dieselbe Erklärung gilt auch für die beiden Fälle spontaner Mutation im Brutschranke. Inwieweit das lange Verweilen bei Zimmertemperatur der zu unseren Experimenten verwendeten Stämme menschlicher Tb. und der lange Aufenthalt im Kaltblütlerorganismus dazu beigetragen haben, die gewiß latent schon vorhandene Fähigkeit der Mutation aktiv zu machen, entzieht sich der Beurteilung.

Aus diesen Ueberlegungen ergibt sich für derartige Versuche das praktisch wichtige Resultat, immer mit einer möglichst großen Zahl von Stämmen zu arbeiten, da die Wahrscheinlichkeit, mit einem mutationsfähigen Stamme zu operieren, mit der Zahl der verwendeten Stämme steigt. Die Seltenheit positiver Befunde wird durch die Mutationstheorie verständlich. „Der Prozeß der Artbildung muß ohne Zweifel auch jetzt noch fortdauern. Sind auch weitaus die meisten Arten jetzt völlig unveränderlich, die Vermutung ist erlaubt, daß es unter ihnen hier und dort, wenn auch vielleicht nur sehr selten, einzelne geben wird, welche sich gerade in einer solchen Umwandlungsperiode befinden“ (de Vries).

Literatur.

Baumgarten, Jahresber. 1902. p. 453.
Beck, Tuberkulosearbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte.
v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 1.
Hesse, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 374.
Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXII. 1902.
Klein, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. p. 78.
Koch, Dtsche med. Wochenschr.
Küster, Zeitschr. f. Tuberk. Bd. VIII. Heft 3 u. 4. (Literaturzusammenstellung.)
Römer, Beitr. z. exp. Therapie. 1903. Heft 6. p. 38.
Tendeloo, Handb. d. Ther. d. Tuberk. v. Schröder u. Blumenfeld. p. 29.
Vagedes, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVIII. 1898.
de Vries, Die Mutationstheorie. Leipzig 1901.
— —, Verhandl. d. Ges. dtscher Naturf. u. Aerzte. 1901. p. 206.
Weber und Taute, Tuberkulosearbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. (Literaturzusammenstellung.)

Bericht über die Influenzauntersuchungen an der Prosektur des k. k. Kaiser Franz-Joseph-Spitales in den letzten 11 Jahren (1896—1906).

[Aus der Prosektur des k. k. Kaiser Franz-Joseph-Spitales in Wien (Vorstand: Prof. R. Kretz).]

Von Dr. **Fritz Tedesko.**

(Schluß.)

1901. 1902.

Die immer abnehmende Influenzamorbidität, wobei das klinische Bild der Influenza oder Grippe bakteriologisch an Einheitlichkeit einbüßt, gestattet, größeren Zeitabschnitten das ihnen Charakteristische zu entnehmen.

Am Sektionsmaterial des Jahres 1901 ist nur in Fall 3 nach dem makroskopischen Aussehen die Diagnose Influenzapneumonie gestellt worden. Bakteriologisch handelte es sich um eine Mischinfektion von Influenza und dem Pneumobacillus Friedländer. In Beobachtung 2 konnten in dem Meningeneiter des Rückenmarks neben Diplo- und Staphylokokken auch Influenzabacillen nachgewiesen werden.

Im Jahre 1902 wurden 6 lange Zeit in Spitalbehandlung stehende Patienten mit chronischer Bronchitis auf ihre Rolle als Influenzabacillenträger untersucht. Das Resultat dieser Untersuchungen, die sich über mehrere Jahre erstrecken, soll zum Schlusse wiedergegeben werden.

Der Befund: Influenza in Reinkultur findet sich ein einziges Mal bei einem an Morbillen verstorbenen 2-jährigen Kinde (46, Pleuraexsudat) verzeichnet. Die an nicht mit Tuberkulose komplizierten Todesfälle mit Influenzabefund haben ein Durchschnittsalter von 55,1 Jahren.

Für das Bestehen der oft bezweifelten Influenzabakteriämie scheinen mir zwei autoptische Beobachtungen als Stütze dienen zu können. Die Influenza ist bei einer großen Reihe von Appendicitiden als ursächliches Moment angesehen worden; davon zeugt der Ausdruck „Appendicite grippale“, der, mehr intuitiv gewählt, erst durch Adrians (17) Arbeit eine Bestätigung erhielt. In Adrians Beobachtung ähnelten die ersten Symptome des Abdominalleidens einer beginnenden Influenza. Nach kurzer Besserung leichtes Trauma des Unterleibes. 2 Tage später Ileocökalschmerz. Bronchitis. Angina. Eröffnung eines periappendikulären Abscesses, in dessen Inhalt kulturell Influenza nachgewiesen werden konnte, gleichwie vom Tonsillenabstrich. Auch in einem unserer Fälle (26e 1902) gelang im Appendixeiter der Influenzabacillennachweis. Der Nierenbeckeneiter von Fall 63 ergab das gleiche positive Resultat.

Diese und die früher erwähnten Bacillenbefunde an endocarditischen Auflagerungen der Cerebrospinalflüssigkeit und andere außerhalb des Respirationstraktus erhobene bakteriologische Untersuchungen stehen mit dem Resultate intravitaler Blutuntersuchungen [Jochmann (7), Klieneberger (25)], wo trotz reichlicher Blutentnahme (20 ccm) keine Influenzabacillen im kreisenden Blute gefunden werden konnten, nicht im Einklange.

Nun finde ich bei der Durchsicht unserer Protokolle einige Beobachtungen (z. B. Jehle, Sc. Fall 15, 35 etc.), die bei positivem Bacillen-

1901	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	8. Jan.	7		Influenza	Diplo + I	
2	9. „	12		Influenza	Reichlich I	
3	9. „	13		Tbc. pulm.	Reichlich I	
4	10. „	15		Influenza	I	
5	14. „	20		Influenza	Reichlich I	
6	14. „	22		Influenza	Pneum, vereinzelt I	
7	16. „	27		Pneum. crouposa	Reichlich I, Pneum	
8	16. „	28		Influenza	Vereinzelt I	
9	16. „	31		Pertussis	Vereinzelt I, große Diplo	
10	17. „	35		Influenza	Reichlich I	
11	18. „	36		Bronchitis	Vereinzelt I	
12	19. „	43		Influenza	Reichlich I + Bac. Jehle (701/99)	
13	20. „	48		Typhus	Reichlich I	
14	20. „	49		Tbc. pulm.	Mäßig reichlich I, reichlich Staph	Bac. Jehle
15	21. „	53		Pneum. crouposa	Reichlich I	
16	21. „	56		Erysipel	Sehr reichlich I, Strept, Staph	
17	23. „	60		Influenza	I	
18	23. „	61		Morbilli	Reichl. I, Strept	
19	23. „	64		Influenza	Reichlich I	
20	24. „	68		Influenza	Reichlich I + Bac. Jehle	
21	25. „	69		Influenza	Reichlich I	
22	29. „	78		Pneumonie	Reichlich I	
23	1. Febr.	88		Erysipel	Reichlich I	
24	1. „	89		Influenza	Reichlich kurze I-ähnliche Bacillen	cf. Bact. Pr.-No. 1006 und 1009 e 1900
25	6. „	97		Pneumonie	Reichl. I + Pneum	
26	6. „	98		Pneumonie	Reichl. I + Pneum	
27	7. „	100		Morbilli	Reichlich Diplo, vereinzelt I	
28	9. „	107		Bronchitis	Reichlich Diplo, vereinzelt I	
29	10. „	111		Diphtherie	Reichlich I	(lange Scheinfäden)
30	12. „	116		Influenza	Reichlich I	
31	15. „	120		Emphysem, Bronchitis	Reichlich I	
32	18. „	126		Pneumonie	Reichlich I	
33	19. „	133		Emphysem	I	
34	20. „	136		Pneumonie	Reichlich I	
35	20. „	137		Influenza	Reichlich I	
36	22. „	142		Pneumonie	Reichlich I	
37	23. „	143		Influenza	Reichlich I	
38	23. „	144		Pneumonie	Reichlich I	
39	25. „	151		Emphysem	Reichlich I	
40	26. „	153		Pneumonie	Reichlich I	
41	27. „	156		Tbc. miliaris	Reichlich I	
42	27. „	157		Bronchitis	Reichlich I	
43	1. März	165		Bronchitis	Reichlich I	
44	3. „	170		Tbc. pulm.	Reichlich I, Diplo, Staph	
45	4. „	173		Pneumonie	Reichlich I, Diplo, Staph	
46	5. „	176		Tbc. pulm.	Reichlich I	
47	5. „	182		Pneumonie	I	
48	6. „	186		Influenza	Vereinzelt I, vorwiegend Staph. aur.	
49	12	200		Tbc. pulm.	Reichlich I	

1901	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
50	13. März	204		Influenza	Reichlich I	
51	14. „	212		Pneumonie	Diplo + I	
52	15. „	213		Bronchitis	Wenig I, Staph, Strept	
53	20. „	230		Scarlatina	Reichlich I	
54	21. „	234		Influenza	Wenig I, viel Strept	
55	22. „	238		Influenza	I	
56	23. „	244		Morbilli	Reichlich I, Cat	
57	25. „	246		Influenza	Cat, wenig I	
58	25. „	249		Influenza	Cat, wenig I	
59	26. „	251		Bronchitis	Sehr reichlich I + Friedl	
60	26. „	252		Pneumonie	Reichlich I, Xerose-ähnliche Bac.	
61	30. „	267		Influenza	Wenig I, kleine Diplo + Strept	
62	1. April	274		Influenza	Wenig I, vorwiegend Strept	
63	4. „	281		Tbc. pulm.	Reichlich I, Diplo	
64	5. „	286		Pleuritis	Sehr reichlich I, wenig Diplo	
65	6. „	288		Scarlatina	I + Diplo	
66	6. „	292		Pneumonie	Reichlich I + Strept	
67	6. „	293		Pneumonie	Reichlich I + Strept	
68	7. „	296		Tbc. pulm.	Vorwiegend Strept, wenig I	
69	9. „	307		Pleuritis	Reichlich I + Staph. aur.	
70	10. „	309		Bronchitis	Reichlich I	
71	15. „	326		Bronchitis	Sehr reichlich I, wenig Diplo	
72	16. „	327		Pneumonie	Reichlich I, Strept, Staph	
73	16. „	328		Influenza	Sehr reichlich I, wenig Diplo, Staph	
74	17. „	330		Influenza	Wenig I, vorwiegend Strept	
75	24. „	343		Tbc. pulm.	Sehr reichlich I	
76	24. „	344		Pneumonie	Sehr reichlich I, wenig Staph	
77	1. Mai	354		Influenza	Reichlich I	
78	2. „	357		Morbilli	Reichlich Strept, Staph, wenig I	
79	3. „	360		Bronchitis	Sehr reichlich I	
80	3. „	361		Pneumonie	Reichlich I	
81	6. „	368		Influenza	Sehr reichlich I	
82	6. „	371		Pneumonie	Reichlich I, Strept	
83	17. „	396		Influenza	$^1/_{10}$ I, sonst Diplo	
84	17. „	397		Bronchitis	$^1/_9$ I	
85	18. „	399		Tbc. pulm.	prachtvolle I, rein!	413 nachuntersucht am 24. Mai
86	20. „	402		Influenza	Reichlich I	
87	20. „	403		Influenza	Wenig I	
88	24. „	414		Pneumonie	Sehr reichlich I	
89	24. „	415		Pneumonie	Reichlich I	
90	24. „	416		Bronchitis	Reichlich I	
91	15. Juni	467		Tbc. pulm.	Sehr reichl. I, große Diplo	
92	15. „	468		Tbc. pulm.	Vereinzelt I, vorwiegend Strept	Bacillus Jehle 472 (18. Juni) idem
93	21. „	479		Pneumonie	Sehr reichlich I	

1901	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
94	26. Juni	490		Tbc. pulm.	Vorwiegend Strept, wenig I	
95	26. „	491		Tbc. pulm.	Reichlich I	
96	1. Juli	498		Pneumonie	Reichlich I + Friedl	
97	2. „	502		Pertussis	Reichlich I	
98	4. „	509		Influenza	Reichlich I	
99	6. „	516		Pneumonie	Vorwiegend Strept, wenig I	
100	11. „	530		Bronchitis	Staph. alb. + Bac. Jehle	
101	13. „	533		Tbc. pulm.	Reichlich I	
102	14. „	539		Pneumonie	Strept + I	Scheinfäden
103	1. Aug.	566		Pertussis	Reichlich I, Strept, Staph. alb. + aur.	
104	26. „	612		Bronchitis	Reichlich I	
105	9. Sept.	641		Influenza	Reichlich I + große Diplo	
106	3. Okt.	687		Influenza	I-ähnl. Kolonieen mit plumpen Bac.	Wachsen nur auf Voges-Agar
107	4. „	690		Influenza	I-ähnl. Kolonieen mit plumpen Bac.	Wachsen nur auf Voges-Agar
108	27. „	744		Influenza	Spärlich I	
109	30. „	749		Influenza	Ueberwiegend I	756 idem, 791 idem
110	31. „	750		Scarlatina	Reichlich I	Viel extracell. Bac.
111	31. „	751		Influenza	Sehr reichlich I	803 idem
112	31. „	752		Influenza	Sehr reichlich I	
113	31. „	753		Influenza	Pneum, wenig I	802 idem, 867, 878, 914
114	4. Nov.	766		Pneum. chronica	I in Reinkultur	Staph-Impfung
115	5. „	769		Tbc. pulm.	Reichlich I + Strept	
116	6. „	772		Influenza	Reichlich I + Staph	
117	6. „	773		Influenza	Reichl. I + Pneum + Friedl	
118	8. „	778		Influenza	Wenig I, vorwiegend Strept	
119	8. „	783		Typhus, Stomatitis	Reichlich I	
120	9. „	789		Influenza	Reichlich I	869 idem, 915
121	13. „	798		Typhus	Strept, Staph. alb., wenig I	
122	13. „	799		Influenza	Strept, Staph. alb., wenig I	
123	13. „	801		Influenza	Reichlich I	Intracellulär
124	14. „	806		Influenza	Spärlich I, Strept	
125	14. „	809		Influenza	Wenig I + Strept	$^{2}/_{3}$ Bac. Jehle
126	14. „	813		Influenza	Reichlich I + Bac. Jehle	
127	16. „	817		Influenza	Reichlich I + Strept	
128	16. „	828		Influenza	Reichlich I	Reinkultur 858 idem
129	18. „	829		Influenza	Reichlich I	
130	18. „	833		Pneumonie	Wenig I, reichlich Strept, Staph	
131	19. „	834		Asthma bronchiale	Reichlich I	
132	19. „	838		Influenza	Reichlich I	
133	20. „	842		Emphysem	Reichlich I + Strept	910 (8. Dez.)
134	21. „	843		Nephritis chronica	Reichlich I	911 (8. Dez.) Friedl + Strept
135	22. „	845		Tbc. pulm.	Reichlich I + Friedl	
136	23. „	850		Pneumonie	Vereinzelt I, Strept, reichlich Cat	
137	24. „	851		Pneumonie	Reichlich I	8. Dez. 912, reichl. Strept, Staph, Cat, wenig I

1901	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
138	25. Nov.	853		Typhus	Sehr reichlich I	Fast Reinkultur
139	26. „	862		Bronchitis	Sehr reichl. I, coliähnliche Bac.	
140	26. „	864		Tbc. pulm.	Strept, reichlich I	
141	27. „	865		Influenza	Mäßig reichlich I, Strept, Cat	
142	27. „	870		Tbc. pulm.	Reichl. I + Friedl, wenig Strept	909 Cat
143	2. Dez.	878		Influenza	Reichlich I, Strept, Staph. alb.	
144	2. „	879		Influenza	Reichlich I, Strept, Staph. alb.	
145	2. „	880		Influenza	Reichl. I, Staph. alb.	
146	2. „	881		Influenza	Reichl. I, Staph. alb.	
147	3. „	883		Influenza	Reichlich I, Staph	
148	3. „	884		Tbc. pulm.	Vorwiegend Strept, Staph, wenig I	
149	3. „	885		Tbc. pulm.	Reichl. I + Pneum	
150	3. „	886		Tbc. pulm.	Reichl. Diplo + Bac. Jehle, keine I	
151	5. „	896		Influenza	Vorwieg. Strept + Staph. alb., wenig I	
152	6. „	901		Influenza	Staph, Strept, Cat, wenig I	999 16. Dez., 967 24. Dez.
153	6. „	902		Tbc. pulm.	Reichlich I, Strept, Staph, Cat	
154	7. „	903		Pneumonie	Sehr reichlich I + Pneum	16. Dez. 941
155	7. „	905		Tbc. pulm.	Reichlich I + Friedl	
156	7. „	907		Tbc. pulm.	Reichlich I + Strept	16. Dez. 945, 29. Dez. 986
157	9. „	916		Influenza	Reichlich I, Strept, Staph, Sarcine	
158	12. „	933		Tbc. pulm.	Reichlich I	
159	12. „	934		Tbc. pulm.	Reichlich I	
160	18. „	951		Influenza	Reichlich I	
161	21. „	963		Tbc. pulm.	Sehr reichlich I	
162	21. „	964		Tbc. pulm., Abscessus pulm.	Vorwiegend Strept, reichl. I + Friedl	
163	24. „	970		Emphysem, Bronchitis	Reichlich I + Cat	
164	26. „	976		Pertussis	Reichlich I, wenig Staph, Strept	
165	28. „	983		Pneumonie	Reichlich I, Strept	
166	29. „	988		Bronchitis	Strept, wenig I	
167	30. „	991		Tbc. pulm.	Mäßig reichlich I, Staph. alb., Strept	
168	30. „	994		Emphysema	Wenig I, Strept	Bac. Jehle ohne kolbige Auftreibung
169	30. „	996		Influenza	Sehr reichlich I, fast Reinkultur	

1901	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	18. Jan.	40	33 J.	Tbc. pulm.	Tbc. chronica pulmonum	Reichlich I
2	14. April	321	26 „	Pneumonie, Meningitis	Meningitis purul., Pneumonia lobul.	Vereinzelt I, vorw. Staph, Myelitis: Vereinzelt I, Diplo, Staph

1901	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
3	18. April	333	12 J.	Nephritis	Pneumonia lobularis haemorrhagica ex infl.	Friedl + I
4	22. Mai	412	27 „	Meningitis, Pneumonie	Pneumonia lobularis	I + Strept
5	26. Okt.	742	39 „	Typhus abdominalis	Sepsis post typhum	Spärlich I + Staph. aur.
6	26. „	743	51 „	Tbc. pulm.	Tbc. chronica pulmonum	Kaverneninhalt: Infl., Diplo
7	11. Nov.	793	7 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Reichlich I, Blut: Reichl. I, vereinzelt Strept, Staph. alb.
8	11. Dez.	928	22 „	Tbc. pulm.	Infiltratio lobularis partim haemorrh. pulm. tbc.	Strept, Staph, mäßig reichlich I
9	14. „	938	1 „	Scarlatina	Bronchopneumonie	Tonsille + Bronchien: θ, Blut: Reichlich I, Staph, Strept
10	24. „	972	1 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	Blut: Reichlich I + Strept
11	24. „	973	1 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis confluens	Blut: Reichlich I + Strept

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	1. Jan.	1		Tbc. pulm.	Wenig I, reichlich Staph, Strept	
2	2. „	3		Influenza (Japletre)	Nasensekret: Mäßig reichlich I, Diplo, Strept	969/01, 26, 82 (23. Jan.), 379 (26. März), 880 (16. Juli)
3	2. „	6		Influenza (Japletre)	Mäßig reichlich I, Diplo, Strept, Friedl	
4	3. „	10		Influenza (Japletre)	Reichlich I, Diplo, Strept	967/01, 27, 45, 52, † 12. Febr. 1902
5	3. „	13		Influenza (Japletre)	Reichl. I, Staph. alb.	
6	4. „	15		Tbc. pulm.	Reichlich I, Friedl, Strept	773/01, 111 (1. Febr.), 153, 269 (6. März)
7	6. „	20		Pneumonie	Reichlich I	
8	7. „	24		Influenza	Reichlich I, vereinzelt Friedl	
9	7. „	29		Influenza	Vorwiegend Staph, Strept, I	
10	8. „	34		Typhus	Reichl. I, Cat, Strept	
11	8. „	36		Influenza	Reichlich I, Strept	
12	8. „	37		Pertussis	Reichlich I, Strept, Staph	22. Jan. = 73, 314 (14. März), 851 (21. März), 387 (26. März), 596 (14. April), 590 (26. April), 723 (31. Mai), 1032 (1. Sept.), 1178 (26. Okt.), 1214 (6. Nov.), 1363 (8. Dez.), 1394 (16. Dez.), 1433 (30. Dez.)
13	9. „	38		Influenza (Prinz)	Reichlich I, vereinzelt Strept, Staph. alb.	
14	9. „	39		Pertussis	Vorwiegend Strept + Cat, wenig I	

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
15	10. Jan.	41		Influenza	Reichlich I, Staph. alb.	293 (10. März)
16	11. „	46		Tbc. pulm.	Reichlich I, Staph. alb.	
17	14. „	53		Influenza	Reichl. große Friedl-ähnliche, keine I	6 (2. Jan. I +), 75 (22. Jan.), reichlich I
18	16. „	59		Pericarditis	Wenig I, zahlreiche coliähnliche	
19	20. „	70		Pneumonie	Reichlich I + Staph	
20	21. „	72		Influenza	Wenig I, reichl. Cat, Diplo, Friedl	
21	22. „	76		Tbc. pulm.	Wenig I, vorwiegend Strept	cf. 986/01, 105, 152 (10. Febr.)
22	23. „	81		Influenza	Wenig I, Strept, Staph	186 (7. Febr.)
23	24. „	88		Influenza	Wenig I, Strept	
24	25. „	93		Tbc. pulm.	Wenig I, Strept	
25	28. „	97		Influenza	Wenig I, Strept	109
26	7. Febr.	137		Gangraena pulm.	Mäßig reichlich I, Staph. alb.	
27	8. „	142		Typhus, Haemoptoë	Reichlich I	148
28	8. „	144		Tbc. pulm.	Mäßig reichl. I, vorwiegend Strept	
29	9. „	145		Influenza	Reichlich I, Strept	
30	12. „	157		Tbc. pulm.	Nasensekret: Reichl. I + Jehles Bac.	194 (23. Febr.), 199, 225 (27. Febr.), 253
31	12. „	158		Tbc. pulm.	Sputum: Strept, Cat, reichl. Jehles Bac., I = θ	
32	23. „	195		Tbc. pulm.	Wenig I, vorwiegend Strept, Staph	
33	24. „	201		Typhus	Reichlich I, Diplo, Strept, Staph. aur.	223 (28. Febr.)
34	25. „	207		Influenza	Nasensekret: Vereinzelt I, reichlich Strept	
35	25. „	208		Influenza	Sputum: Einzelne I, Strept, Coli	
36	25. „	210		Tbc. pulm. (Sterba)	Sehr reichl. I, wenig Staph. alb. + Sarcine	310 (12. März), 356 (22. März), 381, 794 (11. April)
37	25. „	213		Bronchitis	Reichlich I + Staph. alb.	
38	26. „	215		Influenza	Reichlich I + Staph. alb.	
39	28. „	235		Typhus	Reichlich I + Staph. alb.	
40	2. März	241		Influenza	Reichlich I, wenig Strept	
41	4. „	250		Influenza	Einzelne I, vorwiegend Strept	
42	6. „	272		Influenza	Wenig I + Friedl, vorwiegend Staph. alb.	
43	6. „	273		Influenza	Reichlich I, Strept, Sarcine	
44	7. „	277		Influenza	Reichlich I, wenig Staph, Strept	

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
45	7. Febr.	279		Influenza	Reichlich I + Strept	
46	9. „	287		Influenza (Zuckerhut)	Diplo, reichlich I	324 (26. März), 357 (22. März), 409 (1. April), 435, 465 (10. April), 526 (18. April), 725 (31. Mai), 1215 (6. Nov.), 1265 (15. Nov.), 1346 (3. Dez.), 1395 (6. Dez.), 1417
47	9. „	292		Tbc. pulm.	Friedl, I + Strept	378 (26. März), (Jehle)
48	12. „	308		Pneumonie	Wenig I, Friedl, Staph, Strept	
49	16. März	325		Influenza (Schumann)	Sehr reichlich I, vereinzelt Strept, Sarcine	
50	17. „	329		Influenza (Schumann)	Reichlich I, Staph, Sarcine	334, 528 (18. März), 885 (17. Juli), 966 (10. Aug.), 1020, 1031 (1. Sept.), 1047 (15. Sept.), 1109 (4. Okt.), 1141 (15. Okt.), 1166, 1193 (31. Okt.), 1292 (21. Nov.), 1338 (29. Nov.)
51	20. „	339		Influenza (Schumann)	Reichlich I, Strept, Staph, Sarcine	
52	20. „	348		Influenza (Schumann)	Reichlich I, Strept, Staph, Sarcine	
53	23. „	365		Influenza (Schumann)	Reichlich I, Friedl, Staph	
54	24. „	368		Influenza (Schumann)	Wenig I, viel Strept	
55	24. „	370		Influenza (Schumann)	Reichlich I, Staph. alb. + Sarcine	
56	26. „	382		Influenza (Schumann)	Wenig I, vorwiegend Strept	
57	30. „	401		Pneumonie	Ueberw. Friedl, wenig I + Cat	
58	30. „	402		Erysipel	Wenig I, meist Strept	
59	2. April	420		Pneumonie	Reichlich I + Staph, wenig Strept + Sarcine	
60	3. „	425		Emphysem	Reichlich I	
61	6. „	446		Influenza	Wenig I, reichlich Cat + Staph	
62	6. „	447		Influenza	Wenig I, vorwiegend Strept + Sarcine	
63	6. „	448		Morbilli	Conjunctivalsekret: Reichlich I, Staph	
64	7. „	453		Pneumonie	Wenig I + Staph. aur.	
65	8. „	454		Morbilli	Wenig I + Staph. alb.	
66	8. „	456		Emphysema pulm.	Reichlich I + Staph. alb.	
67	10. „	463		Influenza	Reichlich I + Staph. alb.	

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
68	10. April	467		Tbc. pulm.	Wenig I, viel Strept	
69	17. "	517		Influenza	Wenig I, vorwiegend Strept	609 (30. April)
70	18. "	525		Influenza	Reichlich I	607 (30. April), 643 (10. Mai), 757 (10. Juni), 782
71	18. "	527		Influenza (Grill)	Reichlich I + Strept	
72	18. "	530		Tbc. pulm.	Reichlich I	
73	18. "	531		Tbc. pulm.	Reichlich I + Staph	573 (23. April)
74	20. "	542		Morbilli	Conjunctivalsekret: Reichlich I, Staph. alb. aur.	
75	20. "	548		Morbilli	Conjunctivalsekret: Reichlich I, Staph. alb. aur.	
76	22. "	553		Tbc. pulm.	Wenig I, vorwiegend Strept	
77	22. "	560		Tbc. pulm.	Reichlich I + Staph	
78	22. "	568		Pneumonie	Wenig I, vorwiegend Staph, Strept	
79	24. "	580		Pneumonie	Reichlich I	
80	29. "	601		Influenza	Wenig I, Strept	629 (4. Mai)
81	30. "	604		Influenza	Reichlich I, Staph, wenig Strept	
82	5. Mai	630		Influenza	Reichlich I, Staph, wenig Strept	
83	5. "	633		Pneumonie	Reichlich I + Strept	648 (10. Mai)
84	10. "	641		Pneumonia lobularis	Reichl. I + Cat, wenig Strept + Staph	
85	11. "	650		Bronchitis	Reichlich I, Strept	
86	13. "	656		Tbc. pulm.	Reichlich I, Strept	
87	13. "	657		Erysipel	Wenig I	
88	13. "	659		Influenza	Reichlich I	
89	15. "	667		Tbc. pulm. (Teichmann)	Reichlich I + große Diplo	699 (24. Mai), 753 (9. Juni)
90	15. "	669		Influenza	Wenig I, vorwiegend Strept, Staph	
91	25. "	704		Tbc. pulm.	Sehr reichlich I	
92	26. "	706		Pneumonie	Reichl. Pneum, wenig I	
93	27. "	711		Tbc. pulm.	Reichlich I + Strept	
94	28. "	713		Influenza	Reichlich I, Staph, Strept	
95	28. "	715		Influenza	Wenig I, vorwiegend Staph, Strept	
96	6. Juni	744		Influenza (Sitzenfrei)	Reichl. I, große Diplo, Strept	783 (17. Juni), 866 (14. Juli)
97	7. "	747		Influenza	Reichlich I, Staph. alb. + Strept	
98	11. "	763		Tbc. pulm.	Reichlich I, Staph. alb. + Strept	
99	13. "	767		Tbc. pulm.	I + Strept	
100	15. "	773		Tbc. pulm.	Reichlich I, Strept, Staph	
101	17. "	781		Pertussis	Reichlich I, Strept, Staph	
102	21. "	792		Tbc. pulm.	Reichlich I, Strept, Staph	
103	22. "	795		Influenza	Mäßig reichlich I, Staph. alb.	
104	23. "	796		Influenza	Mäßig reichlich I, Strept	

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
105	24. Juni	800		Tbc. pulm.	Strept, Sarcine, vereinzelt I	
106	25. „	804		Tbc. pulm.	Reichl. I, Staph. alb.	
107	27. „	807		Tbc. pulm.	Wenig I, große Diplo, Strept	
108	28. „	813		Pneumonie	Wenig I, vorwiegend Staph, Strept	
109	1. Juli	833		Tbc. pulm.	Wenig I, reichlich Cat, Strept, Staph	
110	8. „	841		Tbc. pulm.	Wenig I + Strept, reichlich Staph	
111	8. „	845		Bronchitis diffusa	Reichlich I, Friedl, Staph, Strept.	
112	15. „	871		Pneumonie	Wenig I, vorwiegend Strept	
113	18. „	890		Tbc. pulm.	Reichlich I, wenig Strept, Staph	
114	20. „	897		Pneumonie	Reichlich I, Staph, Strept	
115	21. „	900		Influenza	Reichlich I + Strept	
116	21. „	901		Influenza	Reichlich I + Strept	
117	30. „	925		Influenza	Reichlich I + Staph	
118	1. Aug.	934		Influenza	Reichlich Strept, Staph, wenig I	
119	23. „	1013		Pneumonie	Strept, Staph, vereinzelt I	
120	6. Sept.	1035		Pneumonie	Strept, Staph, vereinzelt I	
121	9. „	1040		Influenza	Reichlich I	
122	12. „	1044		Influenza	Reichlich I, Strept, Staph	
123	25. „	1074		Pneumonie	Mäßig reichlich I, Strept, Staph. alb.	
124	9. Okt.	1122		Pneumonie	I	1160 (21. Okt.), 1181, 1220 (6. Nov.) (124–125)
125	9. „	1123		Bronchitis (Kapfer)	I	
126	15. „	1145		Tbc. pulm. (Fox)	I	1188 (126–127)
127	16. „	1146		Pneumonia centralis	I	
128	24. „	1173		Influenza	I	1203 (3. Nov.)
129	2. Nov.	1198		Influenza	I	
130	2. „	1199		Diphtherie	I	
131	13. „	1245		Pneumonie	Reichlich I, Strept, Staph	
132	20. „	1282		Icterus gravis, Bronchitis	Reichlich I + Friedl, sonst Strept, Staph	
133	21. „	1291		Influenza	Sehr spärl. I, Strept, Staph	
134	24. „	1304		Pneumonie	Wenig I, Diplo, Strept, Staph	
135	24. „	1312		Influenza	Reichlich Strept, Staph, vereinzelt I	
136	25. „	1314		Pneumonie	I reichlich, Diplo, Strept, Staph, spärlich Friedl	
137	26. „	1326		Influenza	Wenig I, Diplo, Strept, Staph	
138	28. „	1330		Tbc. miliaris	Reichlich I, Staph, Strept	
139	8. Dez.	1368		Pneumonie	Wenig I, Staph, Strept	
140	9. „	1369		Pneumonie	Wenig I, Staph, Strept	

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
141	9. Dez.	1370		Influenza	Sehr reichl. I, sonst Staph, Strept	
142	10. „	1372		Influenza	Sehr reichlich I	
143	13. „	1382		Influenza	Reichlich I, daneben Diplo, Staph, Strept	
144	15. „	1389		Tbc. pulm.	Sehr reichlich I, Strept, Staph	
145	17. „	1397		Influenza	Ziemlich reichlich I	
146	18. „	1400		Morbilli	Sehr reichl. I, sonst Diplo, Strept, Staph	
147	20. „	1405		Influenza	I, Cat, Friedl	
148	25. „	1416		Bronchitis diffusa	I	
149	27. „	1420		Bronchitis diffusa	I in geringer Menge	
150	28. „	1424		Influenza	Mäßig reichlich I	
151	28. „	1425		Bronchitis diffusa	Reichlich I	
152	29. „	1426		Pneumonie	Ziemlich reichlich I, sonst Staph, Strept	

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	7. Jan.	30	2 J.	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Reichlich I, Strept
2	18. „	55	3 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Tonsillen: Strept, Staph, wenig I, Bronchien: Reine Strept, Blut: ⊖
3	5. Febr.	124	2 „	Morbilli in stad. deflorition	Pneumonia lobularis	Reichlich I, Blut: Coli, vereinzelt I
4	12. „	161	44 „	Tbc. pulm.	Tbc. granularis, Bronchitis diffusa	Reichlich I
5	19. „	181	28 „	Gangraena pulm.	Induratio chronica lobi inf. pulm. dextra	Reichlich I
6	26. „	217	50 „	Fractura femoris, Sepsis	Angina tonsillaris, Bronchitis diffusa	Reichlich I, Strept, Staph
7	5. März	264	6 „	Scarlatina	Pneumonia lobularis confluens	Sehr reichl. I, Staph, Strept, Blut: I
8	6. „	271	3 „	Morbilli peracti	Bronchitis diffusa gravis	Blut: Reichlich I
9	7. „	282	2 „	Morbilli peracti	Bronchitis diffusa gravis	Blut: I + Strept
10	10. „	295	82 „	Emphysem, Bronchitis	Pleuritis seropurul., Bronchitis diff., Induratio pulm. centralis post pneum.	I, Friedl, Strept, Coli
11	11. „	303	1 „	Pertussis	Pneumonia lobularis confluens	I + Strept
12	11. „	304	2 „	Morbilli peracti	Pneumonia lobularis confluens	I + Strept
13	12. „	318	5 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Blut: Vereinzelt I, Staph, Strept
14	18. „	332	55 „	Tbc. pulm.	Pneum. crouposa in stad. hepat. griseae	Reichlich I
15	25. „	394	25 „	Bronchitis diffusa	Pneum. lobul. confluens, Induratio pulm., Bronchiectasiae	I
16	28. „	396	3 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis	Larynx: Diplo, I + Strept

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
17	30. März	407	8 Mon.	Morbilli in floritione	Pneumonia lobularis suppurans	Wenig I, Strept, Staph
18	1. April	410	36 J.	Pneumonie	Pneum. crouposa in stad. hepat. griseae	Einzelne I
19	2. „	414	58 „	Ulcera rotunda ventriculi	Peritonitis, Haemorrhag. pulm.	I
20	5. „	440	62 „	Pneumonie	Pneum. crouposa in stad. hepat. griseae	Reichlich I + Friedl
21	5. „	444	4 „	Status moribundus	Pneumonia lobularis confluens	Reichlich I
22	7. „	449	1/2 „	Morbilli	Pneumonia lobularis confluens	Reichlich I, Strept, Staph
23	8. „	455	2 „	Varicella	Pneumonia lobularis confluens	Reichlich I, Blut: Wenig I
24	9. „	460	33 „	Pericarditis	Pneumonia lobularis confluens, Cystitis, Pyelonephritis	Wenig I, Coli, Strept
25	10. „	470	45 „	Myocarditis	Bronchitis diffusa, Angina tonsillaris	Angina: Wenig I, Lunge: Strept, Sarcine
26	19. „	537	25 „	Erysipelas	Bronchitis diffusa	Reichlich I
27	19. „	539	?	Peritonitis purulenta	Appendicitis phlegmonosa	Appendixinhalt: Reichlich I + Coli
28	25. „	586	5 Mon.	Morbilli	Tbc. pulm., Bronchitis acuta	Sehr reichlich I, wenig Strept
29	1. Mai	615	4 J.	Scarlatina	Bronchitis diffusa gravis	Reichlich I + Strept
30	11. „	650	52 „	Pneumonie	Pneum. crouposa in stad. hepat. griseae	Wenig I
31	16. „	672	1 1/2 „	Pneumonia lobularis	Pneumonia caseosa	Wenig I
32	16. „	673	2 „	Pertussis	Peribronchitis tbc.	Blut: Reichlich I
33	20. „	696	1 „	Pneumonie	Bronchitis gravis	Wenig I, vorwiegend Strept
34	20. „	697	28 „	Tbc. pulm.	Tbc. granularis pulm.	Ziemlich reichlich I, Staph. citr., Strept, Coli
35	24. „	700	8 Mon.	Morbilli peracti	Tbc. granularis pulm.	Reichlich I, Strept
36	29. „	717	58 J.	Nephritis chronica	Bronchitis diffusa, Pneum. lobularis	Mäßig reichlich I, Strept, Coli
37	30. „	718	?	Tbc. pulm.	Tbc. pulm.	Reichlich I + Strept
38	4. Juni	737	47 J.	Meningitis	Pneumonia lobularis confluens	Wenig I, Strept, Coli
39	15. „	769	58 „	Tbc. miliaris	Tbc. granularis	Reichl. I, Staph. aur.
40	19. „	790	57 „	Pneumonie	Angina tonsillaris, Pneumonia	Reichlich I, Strept, Sarcine
41	21. „	792	2 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis confluens	Reichlich I + Strept
42	22. „	794	1 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis confluens	Lunge und Blut: Reichl. I + Strept
43	24. „	801	4 „	Scarlatina	Bronchitis diffusa	Blut: Sehr reichl. I + Strept, Knie: Reichl. I + Strept
44	29. „	816	3 „	Scarlatina peracta	Bronchitis diffusa	Blut: Vereinzelt I
45	9. Juli	856	3 „	Scarlatina peracta	Pneumonia lobularis	Blut: Strept, reichlich I
46	15. „	872	2 „	Morbilli	Pneum. lobularis, Pleuritis fibrinosa	Pleuritis: I Reinkultur, Blut: I Reinkultur
47	17. „	883	39 „	Tbc. miliaris	Tbc. granularis	Ziemlich reichlich I, Strept, Cat

1902	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
48	18. Juli	891	14 J.	Diabetes (Coma) .	Pneum. crouposa	Vereinzelt I+Strept
49	18. „	893	48 „	Tumor pulm.	Pneumonia interstit. chronica, Bronchiectasia	∞
50	26. „	913	47 „	Tbc. pulm.	Tbc. granularis, Pneum. interstit.	Reichlich I
51	29. „	922	36 „	Tbc. pulm.	Pneum. lobul. confluens part. caseosa	Mäßig reichlich I
52	17. Aug.	991	13 „	Tbc. miliaris pulm.	Bronchitis purulenta	I
53	17. „	992	31 „	Tbc. chronica pulm.	Pneumonia lobularis confluens	Reichlich I
54	23. „	1011	67 „	Pneumonie	Pneum. crouposa, Pleuritis purulenta	Reichlich I
55	25. „	1016	55 „	Influenza	Influenza, Pleuropneum., Tbc. gran.	I
56	2. Sept.	1099	2 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis	I
57	11. Nov.	1280	6 „	Pneumonie	Abscessus pulm. ex pneum. purulenta	I
58	21. „	1289	57 „	Aneurysma aortae	Aneurysma aortae perf. in bronch. sin.	I
59	21. „	1290	65 „	Bronchitis diffusa	Induratio pulm. post pneum. e infl.	I
60	6. Dez.	1368	40 „	Status moribundus	Pneumonia centralis ex influenza	I
61	9. „	1371	51 „	Bronchitis	Bronchitis diffusa purulenta	I + Staph
62	17. „	1400	$1^1/_2$ „	Diphtherie	Pneumonia lobularis	Reichlich I, sonst Diph, Strept, Staph
63	26. „	1421	58 „	Emphysema pulmonum	Cystopyelitis, Pneum. lobularis	Nierenbecken: I, Coli, Proteus

befund in den Tonsillen einen solchen in den tieferen Luftwegen vermissen lassen. In jüngster Zeit hat Kretz (26) auf die Bedeutung der Tonsillen als Ausgangspunkt und Einbruchspforte bakteriämischer Prozesse hingewiesen, wobei der Infektionsweg längs der Halslymphdrüsen seinen Fortgang nimmt. Leider enthalten diese angeführten Mitteilungen keine Angaben über Tonsillen- und Halslymphdrüsenentzündungen. Nur Adrians Mitteilung enthält das Schlagwort „Angina“.

Anders als auf dem Blutwege entstanden sind auch Verhältnisse, wie sie Fall 43 (Eiterige Gonitis bei Scharlach mit I und Streptokokken), Slawyks (27) mit förmlicher Metastasenbildung einhergehende Influenzameningitis und Ghons (13) Influenzaphlegmone darbieten, nicht zu deuten.

Während wir im Conjunctivalsekret masernkranker Kinder typische Influenzabacillen nachweisen konnten (63, 74, 1902 I + Staph.), glaubt zur Nedden (28), influenzaähnliche, lange schlingen- und fädenbildende Bacillen, die er bei Fällen von Blennorrhoea neonatorum und katarrhalischer Conjunctivitis beobachtete, den Pseudoinfluenzabacillen zurechnen zu müssen.

1903. 1904. 1905. 1906.

Als Beispiel für die abnehmende Rolle des Influenzabacillus als alleiniger ätiologischer Faktor bei Erkrankungen des Respirationstraktus möge das 45 Untersuchungen umfassende, bis zum August reichende Bakterienprotokoll 1906 dienen. Der Influenzabacillus findet sich stets von 2 oder mehreren anderen Bakterienspecies begleitet. Eine häufig

beobachtete Kombination lautet: I, Dipl, Staph, Strept. Auch der Micrococcus catarrhalis wird häufig angetroffen.

Aehnliche Beobachtungen haben manche Autoren veranlaßt, für die endemische, sporadische oder Saisongrippe entweder die ätiologische Rolle des Pfeifferschen Bacillus zu leugnen oder ihm in diesem Sinne eine Spezifizität abzusprechen, daß sie schlechtweg eine bisher noch nicht näher differenzierte hämoglobinophile Bakteriengruppe als Erreger für katarrhalische temporäre Lungenerkrankungen aufstellen, während Kretz die endemische Grippe, als verschiedener Aetiologie zurechenbar, der bacillären Influenza gegenüberstellt.

Zur ersten radikalen Gruppe ist Sacquépée (29) zu rechnen, der in den ersten 2 Wochen einer Grippeerkrankung fast ausschließlich versporende, gramnegative Bacillen beobachtete, die er mit dem Namen R belegte. In den nächsten 2 Wochen prävalierte die Pneumo- und Streptokokkenflora. Erst 1 Monat nach Beginn der Massenerkrankung trat das Pfeiffersche Kurzstäbchen im Sputum auf. Der Autor hält weder R noch I für den Erreger der Influenza und leugnet überhaupt die bacilläre Natur der Influenza. Bezançon und de Jong (30) betonen nach den Erfahrungen, die sie an einer Grippeepidemie im Herbst 1904 machten, die Seltenheit des Pfeifferschen Bacillus und erklären diese Krankheitsformen für einheitliche polymikrobische Infektionen. Die Diskrepanz im klinischen und bakteriologischen Verhalten veranlaßt diese Autoren zur Formulierung folgender Hypothese, welche dahin lautet, daß der spezifische Influenzaerreger ein unbekanntes Agens sei, während die Influenzabacillen und die anderen im Sputum Influenzakranker gefundenen Species nur Erreger einer Sekundärinfektion seien.

In New York machten Park (31), in Frankfurt Klieneberger (32) ähnliche Beobachtungen.

Die ätiologische Wertung des Influenzabacillus wird durch neuere Befunde von hämoglobinophilen Bakterien, die zum Teil Lungenkrankheiten erregen (Bac. pertussis Eppendorf), zum Teil sich bei anderen Organerkrankungen finden, immer unsicherer. Jochmanns und Krauses (33) Pertussisbacillus, der morphologisch und biologisch sich dem Influenzabacillus vollkommen gleich verhält, kann nach Jehles und Max Neissers (zit. aus 7) Beobachtungen keine prägnante ätiologische Rolle zugesprochen werden. Jochmann selbst gibt die Möglichkeit seiner Identität mit I zu.

Klieneberger (32) fand influenzaähnliche Bacillen im Eiter einer Urethritis und eines Gallenblasenempyems. Diesen Befunden ist die Beobachtung von Kretz (34) anzureihen, der in einem pyelitischen Harn der Influenza vollständig gleichende und nur des abnormen Fundortes wegen nicht strikt als solche bezeichnete Bacillen fand.

Die sporadisch seit der Pandemie auftretende Influenza hat zu Untersuchungen über den Fortpflanzungsmodus der außerhalb des Menschen rasch absterbenden Keime geführt.

Lindenthal (6) konnte häufig in den Nebenhöhlen der Nase Influenza nachweisen, ohne daß subjektive Beschwerden diesen Befund vermuten ließen. Der von Ortner aufgestellte Krankheitstypus „chronische afebrile Influenzabronchitis“ ist nach einer Beobachtung von Kretz, der bei einem an Morbus Brigthii verstorbenen Manne 5 Wochen nach einer akuten Influenza im Schleim der blassen, dünnen Bronchialwand reichlich Influenzabacillen fand, wohl zu halten. Seit dem Jahre 1902 wurden in einer größeren Anzahl Fälle von chronischer Bronchitis

auf das Vorhandensein von Influenzabacillen untersucht, indem in bestimmten Zeitabschnitten das Sputum zur bakteriologischen Untersuchung eingesandt wurde.

Hier sei die Krankengeschichte eines 43-jährigen Mannes auszugsweise wiedergegeben, der mit Unterbrechungen vom 2. Januar 1902 bis zum 4. Mai 1905 in Spitalbehandlung stand.

Krankheitsbeginn mit sehr geringem Husten und spärlicher schleimiger Expektoration. Seit 14 Tagen infolge einer Erkältung Schnupfen, Tränenfluß, Kältegefühl (Gänsehaut).

Sichtbare Schleimhäute blaß. Druck im Bereiche des Antrum Highmori stark empfindlich. Rachenwand zeigt chronischen Katarrh.

Thorax breit, epigastrischer Winkel stumpf. Perkutorisch über den Lungen abnorm lauter Schall innerhalb etwas verbreiterter Grenzen, geringe Verschiebbarkeit der Lungenränder. Herzdämpfung überlagert.

Auskultatorisch: Diffuser, trockener Katarrh. An der Basis feines kleinblasiges Rasseln. 2. Pulmonalton accentuiert.

Die im ganzen 23mal vorgenommene Untersuchung ergab bei subjektivem Wohlbefinden und objektiv nachweisbarem Lungenemphysem bei Fehlen von Rasselgeräuschen und Expektoration von spärlichem schleimig-schaumig-wässerigem Sputum stets reichlichen Influenzabacillenbefund bis zum 10. Oktober 1902. Von da bis Anfang November Strepto- und Staphylokokken, keine Influenza.

Anfangs November wieder Husten und Schnupfen, worauf wieder Influenzabacillen gefunden wurden. Dieses wechselnde Auftreten des Bacillenbefundes konnte noch während des letzten Spitalaufenthaltes (30. Januar bis 4. Mai 1905) beobachtet werden.

Ein in Autopsie gewonnenes Parallelstück zu der vorher angeführten klinischen chronischen Influenzainfektion bildet der von Kretz (26) im vorigen Frühjahr demonstrierte Fall: „56-jähriger Zimmermaler. 1900 eine Flüssigkeitsansammlung im Peritoneum, die damals als Ascites im Gefolge von Lebercirrhose angesehen wurde; daneben Emphysem und Bronchiektasie. Bei der Sektion bestätigte sich diese Vermutung, und die bakteriologische Untersuchung ergab das reichliche Vorhandensein von Influenzabacillen. Die chronische Peritonitis, die die Leber eingekapselt und die Cirrhose vorgetäuscht hatte, wurde zum Anhaltspunkte für das Alter der Infektion, die von der Pleura auf das Peritoneum fortgekrochen war. Es ist anzunehmen, daß dieser Zustand schon 1900 eine Spätfolge der Influenza war und in dem Individuum die Krankheitserreger vielleicht mehr als ein Jahrzehnt ein parasitisches Dasein führten."

Da durch die Influenzabacillenträger das Bindeglied mit der Pandemiezeit mit ihren klassischen klinischen Symptomen und ihrem konstanten Influenzabacillenbefund hergestellt ist, haben wir auch jetzt noch das Recht, den konformen Symptomenkomplex bei positivem Influenzabacillenbefund mit dem Namen „Influenza" zu belegen. Der bakteriologischen Einheit zu Liebe sollen alle Saison- (endemischen) Grippeerkrankungen von der „Influenza" getrennt und mit dem Titel des im bakteriologischen Bilde prävalierenden Erregers benannt werden (Pneumokokken-, Catarrhalisgrippe). Besonders sollen die jetzigen polymikrobischen Frühlingskatarrhe, wenn sie auch klinisch der Influenza ähneln, wegen des fehlenden Influenzabacillenbefundes nicht dazu verwertet werden, die ätiologische Einheit der klinischen zu opfern. In demselben Maße, als wir den Gonococcus als spezifischen Erreger einer Reihe von Schleimhauterkrankungen kennen und in akuten und chronischen Fällen immer nur bei positivem Gonokokkenbefunde von wirklich vorhandener Gonorrhöe sprechen, gilt diese Tatsache auch für den Influenzabacillus. Allerdings kann bei dem jetzigen Stande der Infektiosität der Influenza resp. der Empfänglichkeit der Jetztlebenden nicht der von Wassermann vertretene streng bakteriologische Standpunkt zu Recht bestehen: Wo Influenzabacillen, da Influenza; wo keine Influenzabacillen, da keine Influenza! Nur der zweite Absatz dieses Axioms kann akzeptiert werden. Das latente, selbst fakultativ parasitäre, symptomlos verlaufende Vorkommen des Influenzabacillus bietet für die Bacillenträger

1903	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	2. Jan.	6		Bronchitis chronica	Reichl. Diplo, spärlich I	1416/02, 42 (11. Mai)
2	3. „	8		Influenza	Einzelne I	
3	4. „	14		Influenza	I	
4	5. „	15		Pneumonie	Reichlich I	
5	5. „	16		Pneumonie	Spärlich I, reichlich Strept, Proteus	
6	5. „	17		Bronchitis acuta	Reichlich I, sonst Staph, Strept	
7	6. „	23		Influenza	Reichlich I, Strept, Staph, Diplo	
8	7. „	25		Tbc. pulm.	Reichlich I, Pneum	
9	8. „	28		Tbc. pulm.	Spärlich I, reichlich Strept, Diplo, Staph	
10	8. „	29		Bronchitis	Mäßig reichlich I, Diplo, Strept, Staph	
11	8. „	30		Pneumonie	Spärlich I, reichlich Pneum, Strept	
12	8. „	32		Tbc. pulm.	Reichlich I, spärlich Diplo	
13	8. „	34		Pneumonie	Spärlich I, reichlich Pneum + Friedl	
14	9. „	38		Bronchitis	Spärlich I	
15	12. „	47		Bronchitis	Reichlich I	
16	13. „	51		Influenza	Reichlich I, Staph	
17	13. „	52		Pleuritis	Spärlich I, viel Coli	
18	13. „	53		Influenza chronica	Sehr reichl. I, sonst hauptsächl. Staph	cf. 1417 e 1902/03, 217 (20. Febr.), 247
19	16. „	61		Influenza chronica	Sehr spärl. I, sonst Strept	cf. 1433 e 1902, 129, 212 (19. Febr.), 276 (15. März), 303, 342 (31. März), 428 (27. April), 488 (12. Mai), 532, 591 (24. Juni), 712 (28. Aug.)
20	17. „	66		Influenza	Sehr reichlich I, ziemlich viel Friedl	
21	20. „	73		Pertussis	I + Pert., Diplo	
22	21. „	80		Tbc. pulm.	Spärlich I, Diplo, Staph	Jehles Bac.
23	21. „	82		Tbc. pulm.	Sehr reichlich I	
24	3. Febr.	134		Influenza	Sehr reichl. I neben Staph	
25	4. „	135		Influenza	Nasensekret: I, Staph	
26	10. „	158		Pneumonie	Vorwiegend Strept, spärlich I	169
27	10. „	161		Bronchitis	Ziemlich reichlich I, sonst Strept, Staph	174
28	13. „	176		Influenza	Friedl, spärlich I	cf. 1188 e 1902, 296 (13. März), 388 (16. April), 450 (5. Mai)
29	18. „	205		Morbilli	Reichlich Soor u. I, spärlich Friedl	
30	18. „	206		Morbilli	Mäßig reichlich I, sonst Strept, Staph	
31	18. „	208		Bronchitis diffusa	Sehr reichl. I, sonst Friedl, Diplo, Staph	
32	20. „	216		Influenza	Reichlich I + Friedl	
33	20. „	218		Influenza	Spärlich I	
34	23. „	236		Pneumonia recrudescens	Reichl. Friedl, ziemlich reichlich I	
35	24. „	240		Bronchitis	Sehr reichlich I	252 (28. Febr.), Pneum, Jehles Bac.

1903	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
36	1. März	258		Pneumonie, Typhus	Reichlich + Pneum	
37	2. „	261		Pneumonie	Wenig I	
38	7. „	279		Pneumonie	Reichlich I + verschiedene Diplo	
39	14. „	298		Influenza	I + Pneum	
40	15. „	300		Tbc. pulm.	Reichlich I + Diplo	
41	17. „	305		Bronchitis	Wenig I, reichlich Diplo, Staph, Strept	
42	20. „	315		Influenza	Vereinzelt I, reichl. Diplo + Cat	
43	20. „	316		Typhus	Vereinzelt I, sehr reichlich Strept, Pneum	
44	31. „	340		Bronchitis	I	
45	2. April	351		Pneumonie	I + Pneum	
46	8. „	363		Influenza	Reichlich I neben Diplo	
47	9. „	365		Influenza	Reichlich I	
48	9. „	367		Influenza	Ziemlich reichlich I	
49	11. „	369		Influenza	I	
50	16. „	386		Bronchitis	Sehr reichlich I	
51	16. „	387		Bronchitis	Sehr reichlich I	
52	17. „	393		Pneumonie	Spärlich I	
53	17. „	394		Influenza	I	
54	27. „	425		Influenza	Reichlich I	
55	1. Mai	439		Influenza	Neben Staph reichlich I	
56	2. „	440		Influenza chronica	Spärlich I	456 (880/02), 470, 580 (18. Juni), 594 (25. Juni), 607, 658 (22. Juli), 726 (3. Sept.), 783 (20. Sept.)
57	25. „	514		Abscessus pulm.	I	
58	10. Juni	554		Influenza	Sehr spärl. I, hauptsächlich Strept	611 (1. Juli)
59	16. „	574		Influenza	Reichlich I	
60	10. Juli	627		Influenza	Spärlich I	
61	22. „	657		Febris	I	693 (13. Aug.)
62	12. Aug.	690		Influenza	Spärlich I, Diplo	
63	28. „	716		Influenza	Mäßig reichlich I, Strept	720
64	10. Sept.	736		Influenza	Spärlich I	
65	2. Okt.	798		Bronchitis	I	
66	10. „	820		Influenza	I + Strept	
67	29. „	836		Influenza	I	
68	29. „	837		Influenza	I	
69	14. Nov.	867		Influenza	I	
70	17. „	873		Influenza	I	
71	29. „	903		Tbc. miliaris	I	
72	15. Dez.	930		Influenza	Sehr reichlich I	
73	21. „	944		Influenza	I	

1903	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	5. Jan.	18	57 J.	Insuffic. valv. mitral et aortae	Pneumonia centralis lobi sup. et pneum. lobularis, Pleuritis purulenta	Reichlich I + Strept
2	4. Febr.	134	60 „	Meningitis	Bronchitis diffusa	I

1904	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	7. Jan.	21		Pleuropneumonie	I + Friedl	
2	11. „	29		Influenza	I	
3	16. „	44		Influenza	I	
4	18. „	45		Influenza	I	
5	18. „	50		Influenza	I	
6	20. „	59		Pneumonie	I	
7	28. „	70		Influenza	Spärlich I	
8	3. Febr.	82		Influenza	I	
9	9. „	87		Influenza	Sehr reichlich I	
10	10. „	89		Influenza	Reichlich I	
11	16. „	99		Influenza	Spärlich I	
12	17. „	103		Influenza	I	
13	22. „	124		Influenza	Spärlich I	
14	26. „	177		Influenza	Spärlich I	
15	30. „	182		Influenza	I	
16	15. April	309		Influenza	Spärlich I	
17	3. Nov.	645		Influenza	I + Strept	
18	15. „	667		Influenza	I	
19	17. „	674		Influenza, Pneumonie	I, Tbc.?, Pneum I	
20	20. „	687		Tbc. pulm.		
21	21. „	690		Typhus	I, Pneum, Strept, Staph	
22	23. „	696		Influenza	I	
23	7. Dez.	729		Influenza chronica	I	
24	12. „	740		Pneumonie	Diplo, I	
25	14. „	742		Pneumonie	Diplo, Strept, Staph, I	
26	15. „	749		Influenza	I, Staph	
27	15. „	750		Influenza	Diplo, Strept, I	
28	18. „	755		Influenza	I, Diplo	
29	18. „	756		Pneumonie	I, Diplo	

1904	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	15. Jan.	39	72 J.	Status moribundus	Infarctus pulmon., Bronchitis, Pleuritis purulenta	I
2	15. „	41	38 „	Processus puerpuralis	Abscessus multipl. pulm. gangraenescentes, Bronchitis	I
3	18. März	191	56 „	Influenza	Bronchitis diffusa	I
4	27. April	350	57 „	Pneumonie	Abscessus pulm. cum pneum. recenti lobari	I
5	13. Dez.	743	58 „	Pneumonia crouposa	Pneum. crouposa in stad. hepat. rubrae	I
6	22. „	763	61 „	Haemorrhagia cerebri	Bronchitis e influenza	I

1905	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	11. Jan.	18		Bronchitis	Reichlich I, spärlich Diplo	
2	12. „	19		Influenza	Wenig I + Strept, überwiegend Friedl	25 (14. Jan.) nur Diplo
3	12. „	20		Influenza	I + Staph. alb.	

1905	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
4	13. Jan.	24		Pneumonie	I spärlich, Strept, Diplo	
5	13. „	26		Pneumonie	I sehr spärl., Staph, Strept reichlich	
6	19. „	32		Influenza	I mäßig, reichlich Strept	
7	19. „	34		Pneumonie	Pneum, wenig I	
8	26. „	45		Pneumonie	Diplo + I	
9	29. „	49		Influenza	Strept, Staph, I	
10	30. „	50		Influenza	Strept, Staph, I	
11	19. Febr.	86		Fieber	Reichlich I	
12	22. „	99		Chron. Bronchitis	Reichlich I	
13	4. März	114		Influenza	Reichlich I	
14	10. „	125		Influenza	I, Staph, Diplo	
15	12. April	204		Bronchitis chronica	I + Strept	
16	12. „	205		Pneumonie	I, Staph, Strept, Diplo	
17	12. Mai	265		Pneumonie	Diplo, Strept, I	
18	11. Sept.	718		Pneumonie	I	
19	11. „	719		Bronchitis	I	
20	2. Dez.	786		Pneumonie	Staph, Pneum, I	

1905	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	23. Jan.	40	57 J.	Status moribundus	Pneum. crouposa in stad. hepat. griseae cum suppuratione, Bronchitis diffusa	I
2	31. „	52	37 „	Influenza, Pneumonie	Pneum. part. centr. lobul. confl. cum induratione partiali	Fast ausschließlich I
3	8. März	122	70 „	Pneumonie	Pneum. crouposa, Bronchitis purul.	I fast Reinkultur
4	13. „	134	1 „	Diphtherie	Pneumonia lobularis	I
5	13. „	135	1 „	Morbilli	Pneumonia lobularis	I
6	1. April	178	35 „	Pneumonie	Pneum. crouposa in stad. hepat. griseae	Staph. aur., I
7	23. Okt.	650	12 „	Scarlatina septica	Pneumonia lobularis recens	Herzblut: Strept, Bronchialeiter: I fast rein
8	26. „	660	45 „	Aneurysma aortae	Infarctus pulm.	Strept, I, Friedl

1906	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
1	16. März	149		Pneumonie	I, Staph, Cat	
2	24. „	166		Influenza	I + Staph + Strept	182 (29. März)
3	27. „	174		Influenza	I + Staph	† 31. März
4	28. „	177		Febris	I + Staph	
5	29. „	184		Influenza	I + Diplo	
6	31. „	186		?	I + Staph	
7	1. April	188		Pneumonie	I, Diplo, Strept, Staph	
8	4. „	198		Emphysem, Bronchitis	I, Staph, Strept	
9	4. „	199		Emphysem, Bronchitis	I, Diplo, Strept, Staph	

1906	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Bakteriologischer Befund	Bemerkungen
10	4. April	200		Pleuritis	I, Diplo, Strept, Staph	
11	6. „	204		Influenza	I, Staph, Strept	
12	6. „	208		Influenza	I, Staph, Strept, Diplo	
13	7. „	214		Tbc. pulm.	I, Staph, Strept, Diplo	
14	9. „	222		Pneumonie	I, Staph, Strept, Diplo	
15	12. „	230		Bronchitis diffusa	I, Staph, Cat	310 (4. Mai). Im Deckglas I + Diplo, Kultur: Nur Diplo
16	13. „	235		Bronchitis diffusa	I, Strept, Diplo, Cat	
17	13. „	239		Influenza	I, Strept, Diplo, Cat	
18	14. „	244		Influenza	I, Diplo, Strept, Staph, Cat	
19	17. „	255		Influenza	I, Diplo, Strept, Staph	
20	19. „	260		Influenza	I, Diplo, Staph	
21	24. „	270		Influenza	I, Diplo, Strept, Staph	
22	24. „	271		Pleuropneumonie	I, Strept, Diplo, Staph, Cat	
23	25. „	276		Bronchitis	I, Diplo, Strept	
24	26. „	280		Pneumonie	I, Diplo, Cat	
25	28. „	289		Pneumonie	I, Friedl, Diplo, Strept, Staph, Cat + diphtherieähnl. grampositive Stäbchen	
26	28. „	290		Pneumonie	I, Staph, Diplo	314 (10. Mai)
27	29. „	294		Influenza	I, Cat, Coli, Diplo	
28	4. Mai	303		Pneumonie	I + Staph	
29	12. „	321		Pneumonie	I, Diplo, Staph	
30	20. „	338		Pneumonie	I, Staph, Diplo, Strept	
31	20. „	340		Influenza	I, Friedl, Coli	
32	26. „	352		Influenza	I, Cat, Diplo, Strept, Staph	
33	28. „	354		Pneumonie	I, Diplo, Staph, Strept	
34	29. „	356		Pneumonie	I, Diplo, Staph, Strept	
35	30. „	360		Influenza	I, Diplo, Staph, Strept	
36	31. „	364		Influenza	I, Diplo, Staph, Strept	
37	31. „	365		Pneumonie	I, Diplo, Staph, Strept	
38	7. Juni	382		Bronchitis	I, Strept, Staph	
39	14. „	401		Influenza	I, Diplo, Strept, Staph, Friedl	
40	15. „	404		Influenza	I, Diplo, Strept, Staph	
41	17. „	408		Influenza	I, Diplo, Strept, Staph, Cat	
42	21. „	419		Influenza	I, Staph, Diplo	
43	23. „	425		Morbilli	I, Staph, Diplo	
44	23. „	426		Pneumonie	I, Staph, Diplo	
45	24. Juli	487		Appendicitis	I, Diplo, Strept	

1906	Datum	Prot.-No.	Alter	Klinische Diagnose	Obduktionsbefund	Bakteriologischer Befund
1	31. März	185	56 J.	Cirrhosis hepatis	Emphysema pulm. chronic., Bronchitis purulenta	I, Staph, Strept
2	13. April	243	60 „	Pneumonia crouposa	Pneum. crouposa in stad. colliquationis	I
3	19. „	262	57 „	Carcinoma ventriculi	Pneumonia centralis	I + Diplo
4	20. Mai	339	26 „	Tbc. pulm.	Pneumonia caseosa	I, Diplo, Staph
5	29. „	359	18 „	Typhus	Bronchitis purulenta	I

immer eine Gelegenheit, von einer rekrudeszierenden Influenzaattaque befallen zu werden.

Die Influenza (sensu strictiori) in chronischen Fällen verhält sich nicht anders als früher. Dagegen fehlen in der nachgeborenen Generation in den letzten Jahren typische Fälle (vergleiche die durch Influenza gesteigerte Scharlachmortalität 1899, 1900 bei den Kindern, während 1905 ein 61-jähriger Mann der Komplikation von Scharlach und Influenza erlag). Es fehlen auch die in früheren Jahren öfters beobachteten Influenzaansteckungen auf den Krankensälen. Anatomisch auffallend ist der besonders häufige Befund von Pfeiffer-Bacillen bei chronischer Bronchialblennorrhöe und bei Ektasie, der in den letzten Jahren mehrfach konstatiert werden konnte.

Für dieses Verhalten kommen zwei Möglichkeiten in Betracht. Entweder hat eine klinisch wenig Symptome machende Kinderdurchseuchung zu einer erworbenen Immunität derjenigen Generation geführt (Analogon: Malaria in Malariagegenden, endemischer Typhus etc.) oder es ist eine Abschwächung der Infektiosität der Influenza im Laufe der Jahre aufgetreten. Eine definitive Entscheidung dieser Fragen ist derzeit nicht möglich.

Literatur.

1) Pfeiffer, Vorläufige Mitteilung über den Erreger der Influenza. (Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 2.)
2) Beck, Influenza in Lubarsch und Ostertags Ergebnissen etc. Bd. I. 1896. p. 743 ff. u. Bd. V. 1900. p. 535 ff.
3) Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XIII. 1893.
4) Pielicke, Berl. klin. Wochenschr. 1894. No. 23.
5) Borchardt, Beobachtungen über das Vorkommen der Pfeifferschen Bacillen. (Berl. klin. Wochenschr. 1894. No. 2.)
6) Lindenthal, Ueber die sporadische Influenza. (Wien. klin. Wochenschr. 1897. No. 15.)
7) Jochmann, Beiträge zur Kenntnis der Influenza und der Influenzabacillen. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXIV. 1905. p. 470.)
8) Grassberger, R., Zur Frage der Scheinfädenbildung in Influenzakulturen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 353.)
9) Cantani, Wirkung der Influenzabacillen auf das Zentralnervensystem. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXIII. 1896. p. 265.)
10) Jacobsohn, Essai sur l'action pathogène du bacille de Pfeiffer chez les animaux. (Arch. de méd. expér. et d'anat. path. T. XIII. 1901. No. 4.)
11) Jehle, L., Ueber die Rolle der Influenza als Mischinfektion bei den exanthematischen Krankheiten und das Vorkommen von Influenzabacillen im Blute. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. XXII. 1901. p. 190.)
12) Cagnetto, G., Ueber Influenzameningitis. (Atti R. Istit. ven. di scienze. Vol. LXXXIII.)
13) Albrecht u. Ghon, Ein Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Pathologie des Influenzabacillus. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. XXII. 1901. p. 29.)
14) Peucker, H., Ueber einen Fall von durch Influenzabacillen erzeugter Meningitis bei einem 5 Monate alten Kind. (Prag. med. Wochenschr. 1901. No. 13.)

15) Schlagenhaufer, F., Ein Fall von Influenzaendocarditis der Aortenklappen und des offenen Ductus Botalli. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. XXII. 1901. p. 19.)
16) Nauwerck, Ueber Influenzameningitis. (Deutsche med. Wochenschr. 1895. p. 393.)
17) Adrian, C., Die Appendicitis als Folge einer Allgemeinerkrankung. (Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 1901. Heft 4 u. 5. p. 407.)
18) Meunier, A., Le progrès méd. 1897. No. 6. p. 87.
19) Schmid, F., Die Influenza in der Schweiz 1889—1894. Zit. nach Beck (2).
20) u. 21) Zit. nach Beck (2).
22) Kretz, R., Influenzabeobachtungen im Jahre 1897. (Wien. klin. Wochenschr. 1897. No. 40. p. 877.)
23) Wiesel, Die Erkrankungen arterieller Gefäße im Verlauf akuter Infektionen. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. XXVII. 1906. p. 262.)
24) Jehle, L., Ueber eine neue Bakterienart im Sputum. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 3.)
25) Klieneberger, K., Ueber hämoglobinophile Bacillen bei Lungenkrankheiten. (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXVII. 1906. Heft 1 u. 2. p. 112.)
26) Kretz, R., Mitteil. d. Ges. f. inn. Med. 1906. No. 8. p. 105.)
27) Slawyk, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXII.
28) Zur Nedden, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. XXXVIII.
29) Sacquépée, Évolution bactériologique d'un épidémie de grippe. (Arch. de méd. expér. et d'anat. path. T. XIII. 1901. No. 4.)
30) Bezançon et de Jong, Quelques nouveaux documents concernant l'épidémie dite de grippe de l'hiver 1904—1905. (Bull. et mém. des hôp. de Paris. 1905. p. 753.)
— —, A propos de la grippe. (Ibidem. p. 228.)
31) Park, Med. Record. 1905. Mars 18.
32) Klieneberger, Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 575.)
33) Jochmann und Krause, Zur Aetiologie des Keuchhustens. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI. 1901.)
34) Kretz, Wien. klin. Wochenschr. 1898. No. 41. p. 917.

Experimentelle Studien über Syphilis.

[Aus dem Zoologischen Institut der Universität Berlin (Vorstand: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. F. E. Schulze).]

I. Impfsyphilis der Affen.

Von J. Siegel.

Mit 13 farbigen Bildern auf 2 Doppeltafeln und 7 Figuren.

(Fortsetzung und Schluß.)

Was die wichtigen, für Syphilis beweisenden Sekundärerscheinungen auf der Haut der geimpften Tiere anbetrifft, so liegen nicht allein bei Schimpansen gelungene Impfungen vor, sondern auch bei Neuweltsaffen und Hundsaffen sind diese Erscheinungen erzeugt worden. Wie oben ausführlich gezeigt wurde, hatten Klebs, Martineau, Neumann und Zabolotny sekundäre Effloreszenzen bei Nichtschimpansen hervorgebracht. Diese Beobachtungen blieben wahrscheinlich wegen ihrer geringen Zahl fast unbeachtet. Als ich nun bei einer größeren Anzahl von Makaken sekundäre Erscheinungen der Haut erzeugte und dieselben in Photogrammen und Zeichnungen mehrfach (5, 30) sowie in Demonstrationen zur Darstellung brachte, wurden meine Resultate, trotzdem Dermatologen, wie Lassar[1]) in einer Sitzung der Berliner med. Gesell-

1) Anmerkung: Lassar (38) sagte: „Das Bild der Syphilis bei einem niederen Affen, welches sich in diesem Maße nur selten so exakt darstellt und jedenfalls auf die Impfmethode bezogen werden muß, ist besonders hervorzuheben. Selten wohl wird man so ausgesprochene, umrandete Papeln sehen wie hier."

schaft Gutachten zu Gunsten der echt syphilitischen Natur der Erscheinungen abgaben, sowohl von Finger (29) wie Neisser (13) in Zweifel gezogen.

Die Gründe für die Ablehnung meiner Resultate waren das Nichtgelingen derselben Erfolge bei ihren eigenen Versuchen. Daß regionäre Rezidive bei Hundsaffen vorkämen, wollte man zugeben. Finger sowohl wie Neisser (39) berichten davon und Neisser sagt ausdrücklich, daß „dieselben den disseminierten sekundären Exanthemen gleichzustellen seien". Aber hartnäckig, dem einmal ausgesprochenen Prinzip zuliebe, daß zwischen „niederen" und „höheren" Affen, die man außerdem, wie ich schon oben ausführte, falsch gruppierte, ein wesentlicher in dem Impfeffekt zutage tretender Unterschied vorhanden sei, wird immer wieder die Richtigkeit meiner Beobachtungen geleugnet. Was es mit negativen Impfresultaten als Unterlage zur Aufstellung von Schematisierungen auf sich hat, sollte man doch gerade aus der Geschichte der Syphilis, die so reich an lehrhaften Beispielen ist, gelernt haben. Ich erinnere an die von Hunter mit der größten Majorität der Dermatologen auf Grund von Inokulationen aufrecht erhaltene Unität von Tripper und Syphilis und daran, daß Ricord allein auf Grund gelungener Impfversuche die ganze Majorität schlug. Ebenso denke man an die von Ricord auf Grund großer Reihen negativer Versuche trotz der 5 positiven Versuche von Wallace und der zwei Impfversuche Wallers lange Zeit immer wieder aufrecht erhaltene Nichtkontagiosität sekundärer Effloreszenzen. „Den positiven Tatsachen hält er stets seine nicht geglückten Impfungen entgegen, als wären diese negativen Erfolge nach den Gesetzen des Denkens im stande, auch nur ein positives Faktum zu widerlegen" (Auspitz 40). Auch Welz (41) sagt in seiner Arbeit über Einimpfung der Syphilis auf Tiere: „Ein wohlgelungener positiver Versuch überwiegt in seiner Bedeutung jede Anzahl von negativen", und meint sogar, es möchte zuweilen besser sein, negative Resultate bei einer Sache nicht zu veröffentlichen, deren Wahrheit erst festgestellt werden soll, weil daraus irrtümliche Schlüsse gezogen werden.

Daß Neisser meine Resultate zu diskreditieren versucht, indem er trotz der zahlreichen von mir veröffentlichten positiven Versuche immer nur von „einem merkwürdigen Tier" spricht, soll nur nebenbei erwähnt sein, und ebenso daß er versucht die Erscheinungen mit nässenden Effloreszenzen in Beziehung zu bringen, wie er sie häufig bei Affen, „namentlich wenn sie in ungünstigen Ställen untergebracht sind", sah. Ich brauche dem nur entgegenzuhalten, daß gerade ich im Gegensatz zu Neisser, der an verschiedenen Stellen über große Verluste an Affen durch frühzeitiges Wegsterben klagt, wie ich immer betonte, fast gar keine solchen Einbußen an Material erlitt, und zwar infolge ganz besonders guter Pflege und günstiger Stallverhältnisse.

Außerdem liegt doch nicht im geringsten ein irgend logisch oder biologisch zu begründender Einwand vor, der das Auftreten von sekundären Effloreszenzen, die bei Menschen, bei Schimpansen und Hylobatiden beobachtet wurden, nun gerade bei den den Hylobatiden, wie ich oben zeigte, so nahe stehenden Cynomorphen für unwahrscheinlich zu halten.

Ist es doch genügend festgestellt, daß ebenso wie bei Menschen auch bei den cynomorphen Affen die Infektion sich als eine Durchseuchung des ganzen Körpers dokumentiert, und zwar durch die Möglich-

keit, mit Blut und inneren Organen zu impfen. Warum soll ein Korrelat der Durchseuchung bei Menschen, Schimpansen und Gibbons nicht auch bei Hundsaffen möglich sein?

Daß in letzter Zeit auch Kraus (42), der früher ebenso wie Neisser und Finger der Auffassung huldigte, daß ein prinzipieller Unterschied zwischen sogenannten höheren und niederen Affen in Bezug auf sekundäre Exantheme existiere, auf Grund eines bei einem Makaken gesehenen sekundären Exanthems nunmehr sich der von mir immer verfochtenen Ansicht zuwenden mußte, scheint Neisser nicht bekannt zu sein, denn er (13) führt Kraus ausdrücklich noch als Anhänger seiner Theorie an.

An dieser Stelle mag auch zugleich bemerkt werden, daß die von Neisser als etwas Neues betonte Verimpfbarkeit der inneren Organe, resp. des Blutes geimpfter Affen zuerst von mir schon längere Zeit vorher praktisch geübt und auch beschrieben wurde, ohne daß ich ein besonderes Gewicht auf diese Konstatierung gelegt hätte, weil ich annahm, daß was für den Menschen schon seit langer Zeit nach den Versuchen von Waller, Lindwurm, Pellizzari und des Pfälzer Anonymus bekannt war, nun auch selbstverständlich für geimpfte Affen Geltung haben müßte, wenn die Impfung haftete.

Als Anhaltspunkt für die Beurteilung der Inkubationsdauer der Sekundärerscheinungen mag folgende Skizze einer Reihe von Fällen dienen.

Die Zahlen der ersten Reihe bedeuten die 2. Inkubation nach kutaner Impfung, d. h. die Zeit zwischen dem ersten Auftreten des Primäraffekts und den Sekundärerscheinungen.

Tage	8	10	14	21	35	= 185	
Anzahl der Fälle	1	1	5	2	1	= 10	= 18,5 Tage im Durchschnitt

Diesen 10 Fällen kutaner Impfung mit konsekutiven Sekundärerscheinungen stehen gegenüber 21 Fälle kutaner Impfung mit Primäraffekt ohne Sekundärerscheinungen.

Die Inkubation zwischen subkutaner Impfung und dem ersten Auftreten der Sekundärerscheinungen ergab bei 11 daraufhin beobachteten Fällen folgende Zahlen:

Tage	14	18	21	22	23	29	35	= 275	
Anzahl der Tiere	1	1	2	2	1	1	3	= 11	= 25 Tage im Durchschnitt

Diesen 11 positiven Fällen subkutaner Impfung stehen gegenüber 10 Fälle subkutaner Impfung ohne sicheren Erfolg.

Bei Besprechung subkutaner Impfung muß noch erwähnt werden, daß es in den meisten Fällen erst nach wiederholter Impfung mit großen Mengen Materials gelang, schwere Erscheinungen zu erzielen. Hierüber näheres beim Kapitel über Reinfektionen. Es mag hier erwähnt sein, daß ich mich nicht davon überzeugen kann, daß ein prinzipieller Unterschied zwischen den subkutanen und kutanen Impfungen besteht, wie letztere jetzt bei Affenimpfungen überall üblich sind. Solange man kleine, oberflächlich bleibende Skarifikationen als kutane Impfung in Anwendung brachte, mag der Unterschied ein wesentlicher gewesen sein. Aber nachdem jetzt sämtliche Experimentatoren tiefe Einschnitte in die Haut vornehmen und große Mengen Material in die Wunde einreiben, nähert sich meiner Ansicht nach die kutane Impfung sehr der subkutanen. Neisser allerdings betont an verschiedenen Stellen seiner Arbeit, daß ein sehr großer Unterschied zwischen beiden Methoden bestände. Noch auf Seite 97 der „Experimentellen Syphilisforschung“ schreibt er: „Leben-

des Material kann man deshalb verwenden, weil bisher wenigstens nicht festgestellt werden konnte, daß es subkutan oder intravenös eingeführt, lebend sich erhalte und auf diesem Wege eine wirkliche Infektion zu erzeugen im stande sei.“ Doch wie auch andere unlösbare Widersprüche sich in Neissers Arbeiten über Affensyphilis finden, so sagt er auch in Betreff der subkutanen Impfung an anderer Stelle (39): „Aus einer großen Anzahl von Beobachtungen scheint übrigens hervorzugehen, daß die subkutane Zufuhr von Syphilismaterial doch kein für die Tiere gleichgültiger Eingriff ist. Bei höheren wie bei niederen Tieren fiel uns doch eine ganz auffallende Abmagerung, man könnte fast von Kachexie sprechen, auf.“ Wiederum an einer dritten Stelle berichtet er von 10 Fällen subkutan geimpfter Tiere, deren Organe auf Gehalt an Infektionsträgern durch Weiterimpfung geprüft wurden. In 2 von diesen 10 Fällen ergab sich die Weiterverimpfbarkeit der Organe, also die Infektion der subkutan geimpften Tiere.

Was geht nun aus diesen sich widersprechenden Angaben Neissers hervor? Da negative biologische Impferfolge keine Rolle spielen, doch offenbar nur eins: Neisser bestätigt die von mir schon längst gemachte Beobachtung, daß subkutane Impfung ebenso wie die kutane Infektion Syphilis erzeugen kann.

Daß Primäraffekte an der Haut zur Durchseuchung des Körpers nicht durchaus notwendig sind, dafür sprachen ja schon die seit langer Zeit bekannten Fälle von Frauenansteckung, bei denen keine Spur von solchen Hauterscheinungen gefunden werden konnte. Auch die bekannten Ueberimpfungen von Blut auf größere Geschwürsflächen, die der Pfälzer Anonymus vornahm und die ohne Primäraffekt sofort zu Sekundärerscheinungen führten, beweisen experimentell die Möglichkeit eines derartigen Infektionsmodus. Wer aber, wie ich, bei dem Experimentieren mit Syphilis immer wieder die analogen Verhältnisse bei den verwandten akuten Exanthemen ins Auge faßt, dem mußte längst bekannt sein, daß weder bei Pocken (43) noch bei Vaccine oder Maul- und Klauenseuche (43 u. 44) solch ein prinzipieller Unterschied besteht zwischen kutaner und subkutaner Impfung, obgleich feststand, daß zwischen den verschiedenen Impfmethoden graduelle Differenzen wohl anzunehmen sind.

Die Sekundärerscheinungen der Haut wurden bei 21 Fällen folgendermaßen lokalisiert.

Art	Mundschleimhaut	Skrotum	Brust	Gesicht	Bauch	Handflächen
Mal	3	3	6	11	13	13

Die Form der Hauterscheinungen läßt sich im allgemeinen als papulöses Syphilid bezeichnen. Die einzelnen Knötchen von durchschnittlich Linsengröße sind anfangs glatt, immer scharf begrenzt. In späteren Stadien kam es zur Abschuppung in der Mitte, und in einigen Fällen direkt zur Bildung von Geschwüren mit scharfen emporstehenden Rändern. In einem Falle, der früher schon (30) beschrieben und abgebildet wurde, sah ich deutlich ausgebildete phagedänische Geschwüre, die mit Hinterlassung einer Narbe nach längerer Zeit ausheilten.

An den Handtellern stellte sich die Erkrankung als eine der menschlichen, soweit es die verschiedenen Pigmentierungsverhältnisse zulassen, zu vergleichende Psoriasis palmaris dar. Ich verweise wegen dieser Formen auf die Photogramme und Zeichnungen der Tafel (30 und 5). Auch findet man dort eine eingehende Beschreibung der Entwickelung

dieser Lokalerkrankung, so daß ich an dieser Stelle, um Wiederholung zu vermeiden, von einem genaueren Eingehen absehen will. In einer meiner früheren Arbeiten hatte ich beschrieben, daß an den Umschlagsstellen der äußeren Haut zur Schleimhaut, in den Augenwinkeln, Mundwinkeln, an den Lippen und Nasenwinkeln sowie an den Schamlippen sich nicht selten Sekundärerscheinungen ausgebildet hätten und gab auch einige Abbildungen zur Erläuterung. Besonders zeigte ich, daß solche Papeln sich ausnahmsweise in tiefe ins Gewebe einfressende phagedänische Geschwüre umwandeln können, die unter Narbenbildung abheilen. Seitdem hatte ich nun mehrere Male Gelegenheit, während des nach kutaner Stirnimpfung an der ganzen Bauchhaut auftretenden Exanthems zugleich auch direkt von der Bildung von Plaques im Munde und beim Zusammenfließen derselben von größeren Geschwürsbildungen Kenntnis zu nehmen. Die Fig. 13, Taf. II zeigt am oberen und unteren Zahnfleisch solche durch Ineinanderwachsen aus kleineren Geschwüren entstandene ausgedehnte Ulcera. Diese Geschwüre wurden bei den befallenen Tieren erst in der 8.—10. Woche nach der kutanen Impfung beobachtet, bei Nichtgeimpften bisher aber niemals. Ich glaube daher mit einer gewissen Berechtigung diese Symptome als einen spezifischen Effekt der Impfung bezeichnen zu dürfen.

Außer den weit von der Impfstelle auftretenden Sekundärerscheinungen der Haut beobachtete ich auch einige Male solche Sekundärerscheinungen, die sich während des Verschwindens des Primäreffektes in der Umgebung der ursprünglichen Impfstelle entwickelten und von dort aus sich serpiginös ausbreiteten. Solche regionären Sekundärerscheinungen sah ich besonders sich über die Augenlider und Stirn ausdehnen. Ihr Aussehen ähnelte im übrigen sehr den entfernteren Sekundäreffloreszenzen.

Um den Verlauf der Erkrankung eines kutan mit sehr wirksamem Impfstoff infizierten Pavians, der empfindlichsten Gattung der Cynomorphen, zu veranschaulichen, möge folgendes Beispiel dienen, dem die meisten positiven Impfungen mehr oder minder ähnelten, falls es zu deutlichen Sekundärerscheinungen kam. Pavian No. 49, *Cynocephalus hamadryas*, mittelgroßes noch nicht geschlechtsreifes männliches Tier, das am Körper keinerlei krankhafte Veränderungen zeigt und auch sehr munter ist, wird am 18. Juli 1906 an der rechten Augenbraue geimpft. Es werden mit einer spitzen Cowperschen Schere vier tiefe Einschnitte gemacht, etwa im Winkel von 45°. Die Blutung wird durch Kompression mit Watte gestillt, und dann mittels eines stumpfen Spatels der Impfstoff in den Winkel der Lappenwunde gebracht. Der Impfstoff bestand aus einer feinen Emulsion eines mit der Schere von der Augenbraue eines 6 Wochen vorher geimpften Pavians abgeschnittenen Primäreffekts. Nach der Impfung wird das nicht chloroformierte Tier (narkotisiert wurden die Tiere in keinem Falle, ein geschickter Wärter kann die Affen, selbst Schimpansen, in jeder Lage auch so fixieren) noch 1/4 Stunde bis zum Eintrocknen des Impfstoffes festgehalten. In den nächsten Wochen wurde nichts Besonderes bemerkt. Die geimpften Stellen waren nach anfänglicher Wundreaktion, Schwellung und Rötung am Ende der ersten Woche flach und fast abgeheilt. Am 20. August wurde eine auffällige Rötung der geimpften Partie bemerkt und gewissermaßen über Nacht, d. h. mit einer gewissen Plötzlichkeit, entstanden mehrere Papeln, die dann in den nächsten Tagen an der Oberfläche ulcerierten und miteinander verwuchsen, das Bild Fig. 12, Taf. II darboten. In den ersten

Tagen des Septembers traten auf dem Bauche, der Brust, der Innenseite der Oberarme und Oberschenkel zuerst vereinzelte, kleine, rötlich-graue Knötchen hervor, die sich im Laufe der nächsten Wochen an Zahl vermehrten, zum Teil zusammenschlossen, an Farbe dunkler wurden, oberflächlich abschorften und zum Teil größer wurden. Daneben machten sich die Schwellungen der Axillar- und Leistendrüsen immer mehr bemerkbar und zum Schluß hatte sich eine sich schnell entwickelnde Geschwürsbildung am Zahnfleisch gebildet. Vergl. die Abbildungen Taf. I, Fig. 2 (auch Textfig.) und Taf. II, Fig. 13.

Am 1. Oktober wurde das Tier getötet, um die Erkrankung möglichst auf dem Höhepunkt zu untersuchen. An krankhaften Veränderungen fielen besonders verdickte und mit dem Zwerchfell verwachsene Stellen der Leberkapsel auf, sowie eine ziemlich starke Ansammlung von leicht rötlich gefärbtem Serum im Herzbeutel. Die mikroskopische Untersuchung der Leber ergab das Bild, welches auf Taf. I, Fig. 6 u. 7 gezeigt ist.

Auf eine Beschreibung der verschiedenen Entwickelungsformen der Primäraffekte will ich hier nicht weiter eingehen, nachdem ich schon früher (30) ausführlicher darüber gesprochen habe. Am besten werden sie, mehr jedenfalls, als es die beste Beschreibung es tun kann, veranschaulicht durch farbige Abbildungen, die ich deswegen in dieser Arbeit reichlich beigegeben habe. Die farbigen Bilder sind von dem bekannten Maler Schmitson, dem Illustrator des Mracekschen Lehrbuches der Dermatologie, hergestellt. Die äußerst schwierig nachzuahmenden Uebergangsnuancen der anscheinend chromatophorenhaltigen Affenhaut sind in den Kopieen zwar zum Verständnis ausreichend aber nicht so naturgetreu zum Ausdruck gekommen wie in den Originalen.

Hinzugefügt, als möglicherweise auch zu den Folgen der syphilitischen Infektion gehörig, mag werden ein Fall von Keratitis und Iritis bei einem *Macacus rhesus*, 7 Monate nach der Impfung. In der Literatur findet sich bis jetzt nur ein Fall von Iritis bei geimpften Affen (Ehrmann).

Als Beweise für die syphilitische Natur der beschriebenen sekundären Effloreszenzen möchte ich folgende Punkte ansehen:

1) Das Aussehen der Erscheinungen, wobei ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht werden soll, daß schuppende Fleckchen auf dem ganzen Körper verschiedener Affen vor der Impfung zur Kenntnis gelangten, die aber ein durchaus verschiedenes Aussehen zeigten.

2) Der histologische Befund. Wie die beiden Taf. I beigegebenen photographischen Figuren No. 1 und 2 besser als eine Zeichnung beweisen, handelt es sich um dichte Rundzellen- und Bindegewebszellenansammlungen um die Gefäße, genau so, wie man es bei menschlichen Papeln beobachtet.

3) Die Papeln wurden nur gesehen nach einer ganz typischen Inkubation, wie aus der oben gegebenen Skizze zur Ausführung gelangte.

4) Die Uebertragung einer Emulsion mehrerer derartiger Papeln von der Bauchhaut eines Affen ergab bei einem an der Augenbraue geimpften Tiere typischen Primäraffekt.

Die Frage, ob das Auftreten der Sekundärerscheinungen auf der Haut nach dem Primäraffekt als ein Zeichen schwererer Infektion des Gesamtkörpers der Impftiere aufzufassen ist oder nur als eine Begleiterscheinung auftritt, die in keiner Beziehung zu der Schwere der Durchseuchung steht, glaube ich im ersteren Sinne beantworten zu müssen.

Ich fand nämlich makroskopisch und histologisch nachweisbare, anscheinend mit der syphilitischen Infektion in Verbindung stehende Erkrankungen der inneren Organe nur bei solchen Tieren, die deutliche Sekundärerscheinungen der Haut gezeigt hatten.

Solche Veränderungen innerer Organe, die bisher in der Literatur außer bei Klebs noch nicht zum Ausdruck gekommen sind, sah ich unter sämtlichen bisher zur Sektion gekommenen Tieren 3mal. Bei einem 8 Monate nach der Infektion, nachdem hochgradige sekundäre Erscheinungen sich gezeigt hatten, gestorbenen *Macacus rhesus* fanden sich in der Lunge, besonders in den unteren Lappen, isolierte, hirsekorngroße, grauweißliche Knötchen von derber Konsistenz, etwa 12 an der Zahl. Die Lungenspitzen waren gesund, besonders fand sich nirgends etwas auf Tuberkulose Verdächtiges. Die histologische Untersuchung der Knötchen ergab massenhafte Ansammlung von desquamierten und verfetteten Epithelien in den verstopften Alveolen. Daneben Leukocytenansammlung in den Interstitien und um die Bronchien rundzellenreiche Granulationsherde. Die Gefäße im Bereiche der Knoten waren geschlossen infolge von Wucherung der Wandzellen. Verkäste Stellen wie in den Tuberkelknoten fehlten vollständig. Das Ganze machte den Eindruck einer lokalisierten Pneumonia alba. Die Untersuchung auf Tuberkelbacillen ergab das Fehlen derselben. Bei der Frage, ob eine Lungenerkrankung auf Syphilis zurückgeführt werden kann, stellen sich bekanntlich große Schwierigkeiten einer sicheren Entscheidung entgegen. Außer auf die diese Frage behandelnden Kapitel der pathologisch-anatomischen Lehrbücher verweise ich deswegen auf die alle einschlägigen Gesichtspunkte zusammenfassende Arbeit von Spanudis (45). In dem vorliegenden Falle bin ich bei dem sicheren Fehlen von Tuberkelbacillen in den Knötchen, sowie dem Nichtvorhandensein von tuberkuloseverdächtigen Krankheitsprodukten, weder in den Lungenspitzen noch irgendwo im übrigen Körper, geneigt, diese Knötchen auf die syphilitische Infektion zu beziehen. Hierbei ist ausschlaggebend das histologische Bild, das mehr auf die bei Syphilis vorkommenden Erscheinungen deutet, sowie das solitäre spärliche Vorkommen der Knötchen.

Milzanomalien, die eventuell auf die Infektion bezogen werden konnten, sah ich in einer Reihe von Fällen. Da die entzündlichen Erscheinungen sich aber auf eine nicht gerade sehr hochgradige Vermehrung des interstitiellen Bindegewebes beschränkten, möchte ich sie im allgemeinen nicht als Folgen der syphilitischen Infektion bezeichnen. Nur in einem Falle, bei der Sektion eines Pavians, der nach kutaner Impfung mit einem durch Passage verstärkten Impfstamm sehr deutlich ausgebildete sekundäre Erscheinungen der Haut gezeigt hatte, fand ich eine sehr derbe, fast schwarz gefärbte Milz vor. Die Follikel waren derartig geschwollen, daß sie auf dem Schnitt, besonders in der Nähe der Kapsel, wie kleine Tumoren hervorsprangen. Dabei waren die Interstitien mit Rundzellen dicht infiltriert, ebenso wie die stark verdickte Kapsel. In keinem der anderen inneren Organe dieses Falles fand ich krankhafte Veränderungen. Ob die Milzveränderung auf Syphilis zurückzuführen ist, kann ich natürlich nicht entscheiden; es soll nur beschrieben werden, um bei eventueller Wiederholung des Befundes zum Vergleich herangezogen zu werden.

Sind demnach die von mir gesehenen verdächtigen Erkrankungen von Lunge und Milz nur als möglicherweise mit der Syphilis in Zu-

sammenhang stehend zu bezeichnen, so erscheint die bei einem Pavian, der starke Sekundärerscheinungen der Haut gezeigt hatte, gefundene Leberveränderung als mit einem gewissen Grade von Wahrscheinlichkeit auf die spezifische Infektion zurückführbar. Die Abbildungen Tafel I, No. 6 u. 7, zeigen Photogramme von Leberschnitten, in denen die Erkrankung deutlich zu erkennen ist. Das Tier erschien bei der Sektion ganz gesund, nur fiel sofort auf die hochgradige Verwachsung des Zwerchfelles mit fast der ganzen Leberoberfläche durch derbe strangartige Verbindungen. Auf den Schnittflächen der sich derb schneidenden Leber waren auffällige Punkte nicht bemerkbar. Jedoch stellte sich in jedem mikroskopischen Schnitt ein höchst auffälliges Bild dar, wie ich unter vielen ebenso untersuchten Affenlebern nie gesehen hatte. Das periportale Bindegewebe war überall mit dichter Rundzelleninfiltration durchsetzt in einer Weise, wie die Photogramme es zeigen.

Bei dem Fehlen von Tuberkelbacillen in der erkrankten Leber und einer tuberkuloseverdächtigen Stelle irgend eines anderen Organes, sowie der Abwesenheit von Spuren einer Darm- oder Bauchfellerkrankung glaube ich bei dieser Veränderung im Gegensatz zu den oben beschriebenen Milz- und Lungenerkrankungen mit einer gewissen Berechtigung die Syphilis als die Ursache bezeichnen zu dürfen. Sieht man doch auch bei Menschen gelegentlich periportale Infiltration als Folge der Syphilis.

Mehrfachimpfungen sind von mir nicht in einer sehr großen Anzahl vorgenommen worden, da ich bei den mir zu Gebote stehenden Mitteln darauf bedacht sein mußte, die meisten Tiere für die wichtigeren Untersuchungen auf Immunisierung zu verwerten.

Ueber eine Reihe von 24 Fällen gibt folgende Liste eine Uebersicht.

Laufende Nummer	Art der Wiederimpfung	Zahl der Tage oder Monate	Nach subkutaner positiver	Nach subkutaner negativer	Nach kutaner positiver	Nach kutaner negativer
			Erstimpfung			
1	subkutan	30 Tage	+			
2	kutan	33 „			—	
3	subkutan	40 „	—			
4	„	42 „	—			
5	kutan	3 Monate			—	
6	subkutan	3 „	—			
7	„	3 „		—		
8	„	3 „			—	
9	„	3 „			—	
10	„	4 „	—			
11	„	4 „		—		
12	„	4 „				—
13	kutan	5 „	—			
14	subkutan	5 „	+			
15	„	5 „	—			
16	„	5 „		—		
17	„	5 „		—		
18	„	5 „		—		
19	„	5 „			—	
20	„	5 „			—	—
21	„	5 „				
22	kutan	6 „	—			
23	„	6 „				—
24	„	7 „	—			

Aus dieser kleinen Liste, die sich von anderen dadurch unterscheidet, daß außer der kutanen auch die subkutane Wiederimpfung herangezogen wurde, ergibt sich, daß die Wiederimpfungen von mir nicht vor dem 30. Tage vorgenommen wurden. Damit erklärt sich die geringe Anzahl der positiven Wiederimpfungen, denn nach Fingers und Neissers Untersuchungen gelingen Wiederimpfungen, die in keinem Stadium der Syphilis ganz unmöglich sind, in den ersten Tagen nach der Impfung am häufigsten. Die beiden positiven Wiederimpfungen fallen auf die Zeit nach 1 Monat und 5 Monaten nach der Erstimpfung. Daß auch nach negativ angegebenen Erstimpfungen in keinem der 8 Fälle ein positives Resultat erzielt wurde, macht es wahrscheinlich, daß unter den Impfungen, sowohl subkutanen wie kutanen ohne deutlich sichtbare Hauterscheinungen, immer eine ganze Anzahl von Infektionen sine exanthemate sich befinden, wie auch analoge Fälle genügend zahlreich bei Spontanerkrankungen an den akuten Exanthemen bekannt sind.

Aus dieser Liste scheint hervorzugehen, daß subkutane ungefähr in gleicher Weise wie kutane Impfung Immunität gegen eine Nachimpfung erzeugen kann, wenn man die Nachimpfung erst nach einem längeren Zwischenraume vornimmt, etwa erst nach einigen Monaten. Diese Beobachtung steht nicht in Widerspruch mit den Erfahrungen anderer Autoren, da Nachimpfungen nach subkutanen Impfungen von diesen in viel früheren Zeiträumen nach der ersten Impfung vorgenommen wurden. In Bezug auf die subkutane Impfung haben sich die Ansichten anderer Autoren ja auch in anderer Beziehung geändert. Nahmen doch in den ersten Veröffentlichungen sowohl Finger wie Neisser an, daß solche Impfungen niemals eine Infektion des Tieres zur Folge haben könnten. In letzter Zeit ist in dieser Ansicht, wie ich oben zeigte, nun auch eine Wandlung eingetreten, indem Neisser jetzt selbst von gelungenen subkutanen Infektionen berichtete.

Daß subkutane und kutane Impfung gleichwertige Erfolge in Bezug auf Durchseuchung und Immunisierung haben, nehme ich nicht an. Der Infektionsstoff wird bei der subkutanen Impfung unter ganz anderen Bedingungen, die den natürlichen nicht entsprechen, in sein Wirkungsgebiet geschafft, und es ist anzunehmen, daß unter diesen ihm nicht in demselben Maße zusagenden Bedingungen eine Abschwächung in mancher Beziehung zu stande kommt, die das ganze Krankheitsbild in der Regel nicht in vollstem Maße zur Ausbildung kommen läßt. Wir könnten uns vorstellen, daß der Erreger der Syphilis als ein parasitäres Protozoon nach dem Vorbilde der besser bekannten einen doppelten Entwickelungsgang durchmachen muß und zwar den ungeschlechtlichen mit schneller Vermehrungstendenz im Blute und andererseits den geschlechtlichen mit Dauerformen endenden.

Kommt es nun ohne die bei der natürlichen Infektion gegebenen Bedingungen, die in einer langsamen Anpassung an den Wirt zunächst in der Haut gegeben sein mögen, sofort zur Verteilung im Wirtsorganismus, so mögen hierbei Abschwächungen, Hemmungen und andere uns vorläufig unbekannte Hindernisse im Spiele sein, die in manchen Fällen das Durchlaufen des geschlossenen Generationswechsels nicht zu Ende kommen lassen. So kommt es, daß die Entwickelung auf einem Punkte zum Abschluß gelangt, ohne daß das natürliche Ende, dessen Ausdruck die auf geschlechtlicher Differenzierung beruhende Dauerformenbildung ist, erreicht wird. In solchen Fällen bleibt dann eine richtige Durchseuchung mit den Folgen derselben, der Immunisierung, entweder ganz aus oder

wird zeitlich hinausgeschoben. Auf diese Weise erklären sich die ganz verschiedenen Beobachtungsresultate über Immunität, wie sie in der Literatur deponiert sind.

Zum Verständnis dieser Verhältnisse scheint mir ein Hinweis auf ähnliche Zustände bei einer verwandten Krankheit, den Pocken, sehr geeignet zu sein, wie ich überhaupt immer wieder betonen möchte, daß die Analogien mit den übrigen zum Teil eingehender experimentell studierten akuten Exanthemen bei der Erforschung der biologischen Bedingungen der Syphilis von größtem Nutzen sein können.

Besonders beim Studium der Pocken resp. der Vaccine haben die Versuche der subkutanen Infektion zu sehr lehrreichen Parallelen Veranlassung gegeben. Man vergleiche folgende in der Literatur zu findenden Angaben:

Durch subkutane Einverleibung von Vaccinelymphe versuchten zu immunisieren:

Beclère, Chambon und Ménard (32)	bei Rindern	mit Erfolg	Lymphe war unfiltriert
Tedeschi (47)	„ „	ohne „	„ „ „
Rouget (48)	„ „	mit „	„ „ filtriert
Casagrandi (49)	„ Hunden	mit „	„ „ „
„ (50)	„ Menschen	ohne „	„ „ „
Nobl (46)	„ „	mit „	„ „ unfiltriert

Diese Versuche scheinen sich zunächst zu widersprechen. Den Unterschied zwischen filtrierter und unfiltrierter Vaccine können wir bis auf eine quantitative Differenz fallen lassen, nachdem in letzter Zeit ich (43), dann Negri (51), Remlinger und Nouri (52) sowie Casagrandi (50) den Nachweis geliefert hatten, daß der Erreger das Filter passiert.

Im übrigen erklären sich die Unterschiede der Resultate wohl zwanglos, wenn wir die Verschiedenheit jedes Impfstammes, die individuellen Abweichungen der Impftiere und Menschen und die Abweichungen der Methode sowie andere Zufälligkeiten berücksichtigen.

Mit dieser Gegenüberstellung wollte ich also zeigen, daß ganz verschiedene Beobachtungsresultate nicht allein bei der Lues, sondern auch bei verwandten Krankheiten vorkommen, und daß wir bei den Pocken für diese Resultate nunmehr im Laufe der Zeit eine zwanglose Aufklärung zu Gunsten der positive Resultate zeigenden Versuche gefunden haben. Daß die abweichenden Beobachtungen der Autoren bei der experimentellen Syphilis sich schließlich zu Gunsten meiner positiven, zum Teil noch bestrittenen Ergebnisse allmählich aufklären werden, dürfte ebenfalls zu erwarten sein.

Noch auf ein anderes nahe liegendes Beispiel möchte ich hinweisen. Man hatte in den ersten Jahren der modernen Erforschung der Maul- und Klauenseuche, ebenfalls eines akuten Exanthems, auf Grund negativ ausgefallener Impfversuche behauptet, die subkutanen Einspritzungen des Virus wären nicht von einem Ausbruch der Krankheit gefolgt. Ja man ging sogar so weit, diese Methode als eine unschädliche Immunisierungsmethode zu benutzen, was vor allem Nosotti bei mehreren Tausend Rindern mit wechselndem Erfolge durchführte. Später lernte man aber kennen — auch ich (44) selbst bei einigen Hundert Rindern — daß unter bestimmten Umständen, deren Kenntnis vollständig verborgen blieb, die subkutane Impfung ausnahmslos von dem schnellsten und schwersten Ausbruch der Krankheit gefolgt sein kann. Solchen Erfahrungen gegenüber tut man gut, auf negative Ausfälle der Experimente nicht allzuviel Gewicht zu legen und vor allen Dingen nicht voreilig zu

dogmatisieren, während andererseits jeder einzelne positive Versuch ernsthaft registriert werden muß.

Kurz möchte ich noch die Frage berühren, die wegen ihrer für die Ventilierung einer eventuellen aktiven Immunisierung nach Analogie der Pockenimpfung wichtig erscheint, nämlich ob bei der Passage der Syphilis durch verschiedene Tierarten sich einigermaßen konstante Werte ableiten lassen. Diese Frage ist, wie ich gleich vorausschicken will, sehr schwer zu entscheiden, sehen wir doch auch bei den Pocken mit Ausnahme des einen Verhältnisses zwischen Rind und Mensch überall die unzuverlässigsten Schwankungen in der Virulenz vorwalten. Es dürfte bekannt sein, daß der Versuch die Schafe durch Verimpfung des auf Kälber übertragenen und von da zurückgewonnenen Menschen- oder Schafpockenstoffes gegen die originären Schafpocken zu schützen, in vielen Fällen unzuverlässige Resultate hatte, d. h. häufig wiederum echte Schafpocken erzeugte, so daß diese anfangs viel geübte Praxis der Vaccination schließlich aufgegeben werden mußte. Auch konnte, um ein neuerdings bekannt gewordenes Beispiel zu nennen, bei der Uebertragung der Pocken auf Kaninchen und Fortimpfung bei dieser Tierart bis zur 5. Generation und Ueberimpfung auf Affen eine Abschwächung nicht konstatiert werden (69). Die von mir bei Syphilis gesammelten Erfahrungen sind nicht geeignet, vorläufig einen Schluß auf eine konstante Abschwächung durch Passage durch eine andere Tierart zu erlauben. Daß das Virus bei Passage des Kaninchenkörpers Abschwächungen erduldet, scheint mir sicher. Sah ich doch bei einer größeren Reihe von Uebertragungen auf Affen, sowohl kutan sowie subkutan keine Erfolge. Andererseits sah ich in einigen Fällen deutliche Abschwächung des Virus. Z. B. zeigte der von mir mit Kaninchenorganen geimpfte Schimpanse, nachdem am 15. Tage an 2 von 5 Impfstellen deutliche Primäraffekte zutage getreten waren (s. Abbildung Taf. II, Fig. 5), nach 3 Wochen nur ein leichtes Exanthem der Haut der Innenseite der Oberschenkel und der Bauchgegend, eine Roseola, die allmählich unter Abschuppung wieder verschwand. Das Allgemeinbefinden war nur in den ersten Wochen nach der Impfung gestört (Freßunlust). Später aber erholte sich das Tier und blieb monatelang sehr munter. Auch reagierte es nicht auf eine nach 3 Monaten vorgenommene Impfung mit Material, dessen Virulenz durch Verimpfung auf einen Pavian bewiesen war. Also die leichte Erkrankung hatte Immunität zur Folge gehabt. Aber die Abschwächung war nicht von Dauer, denn eine Ueberimpfung der Papeln des Schimpansen auf einen Pavian hatte einen in 4 Wochen entstehenden sehr deutlichen Primäraffekt zur Folge und nach 8 Wochen das Auftreten eines sekundären Exanthemes auf Bauch und Brust.

Einen bestimmten Unterschied zwischen den Erscheinungen bei Affen je nachdem sie mit menschlicher oder vom Affen gewonnener Papel geimpft wurden, konnte ich auch nicht feststellen. Ich sah ganze Serien schwerster Erkrankung nach Impfung mit menschlichen wie nach Affenmaterial, wie andererseits bei beiden Impfarten nur leichte kaum erkennbare Resultate. Doch spielen hier, wie ich schon mehrfach betonte, außer der Qualität des Impfmaterials so viel andere unbekannte Faktoren mit, daß man auf die Eigenschaften des Impfmaterials Schlüsse zu machen sich hüten muß. Für die Richtigkeit der eben erwähnten Beobachtung der Inkonstanz des Virulenzgrades scheint mir auch folgendes zu sprechen. Bei einer durch 10 Generationen fortgesetzten Reihe von Uebertragungen desselben Virus erzielte ich zuerst nur Primäraffekte,

dann bei mehreren Tieren neben Primäraffekten sehr deutlich ausgebildete Sekundärerscheinungen und schließlich wieder Primäraffekte ohne sekundäre Exantheme. Sämtliche Impftiere dieser Reihe gehörten derselben Art an (*Cynocephalus hamadryas*).

Passageimpfungen mit Organen geimpfter Meerschweinchen und Mäuse hatten bisher keinen sichtbaren Erfolg.

Aehnlich ungleich in ihrer Erscheinungsform wie bei den Affen waren auch die Resultate der Uebertragung syphilitischen Materials auf Kaninchen. Während bei einer Reihe derselben deutliche Hauterscheinungen, bestehend in Haarausfall, Exkoriationen besonders an Füßen und Kopf sowie starke Abmagerung beobachtet wurde, trat bei den meisten ein äußerlich erkennbares Krankheitssymptom nach subkutaner Impfung nicht hervor. Die Ursachen dieser Verschiedenheiten der Reaktion sind vorläufig ebenso rätselhaft wie bei den Affenimpfungen. Der ungleiche Ausfall der Weiterimpfung von Kaninchen auf Affen muß ebenfalls aus solchen Differenzen der Virulenz erklärt werden.

Jedenfalls sieht man aus diesen Passageimpfungen, daß vorläufig noch keine Aussicht besteht, eine konstante Abschwächung etwa zum Zwecke der Immunisierung des Menschen zu erzielen. Doch ist die Zahl der Versuche verhältnismäßig noch sehr gering, so daß ein Aufgeben weiterer Experimente in dieser Richtung noch nicht berechtigt erscheint.

Zum Schluß möchte ich noch einige allgemeinere Beobachtungsresultate einer Besprechung unterziehen, die sich bei der Bearbeitung der Syphilis ergeben haben und vielleicht geeignet sein dürften, bei der Aufstellung von Arbeitshypothesen verwertet zu werden. Zunächst die Frage, zu welcher Gruppe von menschlichen Erkrankungen muß man die Syphilis rechnen? Das Auftreten eines charakteristischen Exanthems nach einer bestimmten Inkubation und häufig im Anschluß an ein kurzes Initialfieber, die Aehnlichkeit dieses Exanthems mit denen der Masern und des Scharlachs hat schon häufig die Parallelisierung der Syphilis mit der Gruppe der akuten Exantheme zur Folge gehabt. Ich erinnere an Bäumler (53), Gerhardt (54) Fürbringer (55). Auch die Beobachtungen der Nachkrankheiten, wie sie bei den akuten Exanthemen genannt werden, und deren Vergleich mit den sogenannten tertiären Erscheinungen der Syphilis, den Erkrankungen der inneren Organe, des Nervensystems und des Gehirns hatten dazu geführt, die Verwandtschaft der Syphilis mit den Exanthemen zu befürworten. Allerdings gerieten diese Vergleichspunkte mit dem Verschwinden der Pocken, des schwersten dieser akuten Exantheme, in den letzten Jahrzehnten immer mehr in Vergessenheit und es traten dann gelegentliche Stimmen auf, die Berührungspunkte der Syphilis und Tuberkulose konstruierten. Diese Ansichten, die sich mehr oder minder auf eine gewisse Aehnlichkeit des pathologisch-anatomischen Bildes der bei beiden Krankheiten vorkommenden Granulationsgeschwülste basierten, können aber nicht standhalten einer allgemeinen, das ganze Krankheitsbild der Syphilis mit den charakteristischen, nach längerer Latenz wiederkehrenden periodischen Nachschüben ins Auge fassenden Betrachtungsweise und sind nach dem Fallenlassen des Lustgartenschen Bacillus, der gewisse färbetechnische Aehnlichkeiten mit dem Tuberkelbacillus aufwies und dadurch die Syphilis der Tuberkulose näherzurücken schien, verlassen worden.

Fragen wir nun weiter, zu welcher der bereits ätiologisch erforschten Krankheit, sei es der Menschen oder der Tiere, die Syphilis die meiste

Verwandtschaft zeigt, so kann es kein Zweifel sein, daß hier die Dourine, die sogenannte Beschälseuche der Pferde, in erster Linie in Betracht kommt. Dieser Vergleich ist schon alt; wir finden ihn schon bei Proksch (1), Friedberger und Fröhner (56) u. A.

Die Aehnlichkeit der Ansteckungsbedingungen, der nach einer gewissen Inkubation auftretenden Erscheinungen der Haut, bei der Dourine bestehend aus Knotenbildungen der Cutis und Geschwüren, und schließlich der Späterscheinungen bei beiden Krankheiten, verbunden mit Beteiligung des Nervensystems, sind geradezu frappierend. Als Erreger der Dourine ist 1894 von Rouget (57) ein *Trypanosoma*, das sogenannte *Tr. equiperdum* (Doflein), festgestellt, und auch dieses zeigt, wie die pathogenen Trypanosomen überhaupt, ganz eigentümliche Eigenschaften in den Schwankungen seiner Virulenz, die wiederum an ähnliche Beobachtungen beim Experimentieren mit syphilitischem Virus erinnern. Ich mache nur darauf aufmerksam, daß gewisse ganz gewaltige Differenzen in der Virulenz verschiedener Stämme des *Tr. equiperdum* verschiedenen kleineren Versuchstieren gegenüber beobachtet wurden, die ganz auffällig an die in diesem Aufsatze des öfteren von mir betonten Ungleichheit der Wirkung syphilitischer Virus bei verschiedenen Impftieren den Kaninchen, Mäusen und auch Affen erinnern. So konnte z. B. Rouget (57) mit einem Impfstamme von Dourinetrypanosomen dauernd Mäuse infizieren, während dasselbe anderen Beobachtern nie gelang. Diese Differenzen führten zur Anzweiflung der Richtigkeit der Rougetschen Beobachtung und mußten doch, als man sich nach einigen Jahren von dem für die Trypanosomen überhaupt besonders charakteristischen Phänomen der Impfstammverschiedenheiten überzeugt hatte, zu Gunsten dieses Forschers, entschieden werden.

Ist demnach die nahe Verwandtschaft der Syphilis mit einer Trypanosomenkrankheit nahezu sichergestellt, so erscheint die Frage, zu welcher Gruppe von Kleinlebewesen der Erreger gehören muß, ob zu den Protozoen oder Bakterien, auch zu Gunsten der ersteren entschieden, und tatsächlich war auch in den letzten Jahren die ätiologische Forschung ziemlich allgemein auf die Entdeckung eines Protozoons und nicht eines Bakteriums gerichtet. Es kann daher nicht auffallen, daß von solchen Forschern, die zweifellose Bakterien, die sogenannten Spirochäten, als Erreger der Syphilis hinstellen möchten, zielbewußte Anstrengungen gemacht werden, diese Bakterien obigem Postulate entsprechend als Protozoen hinzustellen.

Ich wollte auf diesen Punkt in diesem Abschnitt meiner Arbeit über Syphilis eigentlich nicht weiter eingehen, aber es erscheint doch notwendig, besonders da die Verwirrung auf diesem Gebiete in letzter Zeit wiederum durch die Arbeit über die Zahnspirochäten von Mühlens und Hartmann (59) neue Nahrung bekommen hat, darauf hinzuweisen, daß die Spirochäten, solange sie als Gattung bestimmt waren, also seit Ehrenberg (60) dieselben im Jahre 1838 als Bakterien beschrieb, auch als Bakterien gegolten haben. Erst als Schaudinn (61) bei einem Protozoon, dem *Leucocytozoon Ziemanni*, ein Entwickelungsstadium fand, das eine äußerliche Aehnlichkeit mit Spirochäten zeigte und die durch nichts bewiesene Behauptung aufstellte, die Spirochäten seien Protozoen, fängt die Verwirrung an, die auch heute noch nicht zu Ende ist. Es sei daher hier nochmals darauf hingewiesen, daß Bütschli (62), Thesing (63), Koch (64), Zettnow (65) ausführlich die Gründe angeben, weshalb die Spirochäten keine Protozoen sind

Auch hervorragende Protozoenkenner des Auslandes, Novy und Knapp (66) sowie Woodcock (67), haben sich in letzter Zeit ganz entschieden gegen die Protozoennatur der Spirochäten ausgesprochen[1]).

Besonders der letztere Autor beschäftigt sich eingehend mit der berührten Frage, ob die Spirochäten etwa Protozoen seien, wie Schaudinn befürwortete. Vor allen Dingen hält er die undulierende Membran nicht für erwiesen. „The writer is more inclined to Laveran and Mesnil's idea of the „membrane" of a Spirochaeta as a general ectoplasmic invertment surrounding the body; such a sheath might well appear, as in Schaudinns figures." Auch meint er, daß der Charakter der Kernsubstanz von *Spirochaeta balbiani* und *plicatilis* sich erheblich in zwei Punkten von denen der Trypanosomen unterscheide, und zwar sei er 1) diffus wie bei den Bakterien und 2) zeige er keine Differenz zwischen kinetischen und trophischen Chromatinelementen. Zum Schluß sagt Woodcock: „it is sufficient to say that the available evidence appears to be against this form having anything to do with parasitic Flagellates". Auch Wenyon (70) betont bei Beschreibung der von ihm bei Mäusen beobachteten, auf festen Nährböden züchtbaren Blutspirochäten (*Sp. muris*), daß die Spirochäten keine Protozoen seien.

Der neuerdings von Hartmann und Mühlens (59) unternommene Versuch, die Schaudinnsche Hypothese von der Protozoennatur der Spirochäten zu retten, muß als mißlungen bezeichnet werden. Das Wachstum der *Spirochaete dentium* auf festem Nährboden in einer für Bakterien durchaus typischen Weise und die vergeblichen Bemühungen, für Protozoen charakteristische Merkmale, wie undulierende Membran und Längsteilungen, mit Sicherheit nachzuweisen, bestätigen nur die Bakteriennatur der Spirochäten, ebenso besonders auch die früher von Thesing (63), beobachtete bakterieneigentümliche Resistenz gegen Kalilauge.

Ist nun die Spirochäte kein Protozoen, so fällt schon aus diesem Grunde jede Wahrscheinlichkeit, daß eine Spirochäte der Erreger der Syphilis sein könnte, denn ein Bakterium kann nach allem, was wir über diese Gruppe von Kleinlebewesen wissen, unmöglich das mit komplizierten periodischen Cyklen einhergehende Bild der Syphilis hervorrufen. Doch wollte ich an dieser Stelle nicht weiter auf die vielen Widersprüche und falschen Schlüsse eingehen, die bei der Aufstellung der Spirochätentheorie unterlaufen sind. Nur auf einen Hauptpunkt, der anscheinend immer noch nicht genügend gewürdigt wird, soll hingewiesen werden, wenigstens findet man bei den Anhängern der Spirochäten ein auffallendes Ausweichen der Erörterung dieses Punktes. Wie kommt es, daß wenn ein Organ einer mazerierten Frucht im Schnitt mit Silber behandelt, so außergewöhnlich viel — nach den Autoren „Myriaden" — Spirochäten in jedem Gesichtsfelde zeigt, der Ausstrich desselben Organs mit Anilinfarben, z. B. mit Giemsa-Farbstoff, der doch die Spirochäten der Hautoberfläche im Ausstrich so vorzüglich färbt, nicht eine einzige Spirochäte zum Vorschein bringt — immer natürlich vorausgesetzt, daß die Organe auch sonst bakterienfrei sind? Auch mit dem Dunkelfeldmikroskop, dem nachgerühmt wird, daß es das Uebersehen einer Spirochäte im Safte des Primäraffektes unmöglich mache, kann man im Safte einer Leber, die bei Silberbehandlung „Myriaden" von „Spirochäten" zeigt, nicht eine einzige finden. Die Unlösbarkeit dieser Widersprüche ist geeignet, zu beweisen, daß die „Silberspirochäten" keine Organismen, sondern durch

1) In demselben Sinne äußert sich auch ganz neuerdings Swellengrebel. (Soc. de Biol. séance du 9 février 1907.)

die spezifische Läsion deformierte Gewebsbestandteile sind, und damit fällt die ganze Spirochätenfrage, denn ohne die Silberspirochäte bleibt nur die oberflächlich schmarotzende, harmlose Hautspirochäte übrig, die auf Grund irrtümlicher Untersuchungen zu so großer Anerkennung gelangte. Wegen der vielen anderen Gründe, die gegen die Bedeutung der Spirochäten als Syphiliserreger sprechen, verweise ich hier auf die ausführlich diese Frage behandelnden Arbeiten Thesings (63), Salings (17), W. Schulzes (16) und Friedenthals (18).

Die vielen sogenannten Bestätigungen, die sich besonders mit den „Silberspirochäten" beschäftigen, sind doch nichts anderes als Bestätigungen einer unbewiesenen Voraussetzung, nämlich daß die mit Silber imprägnierten Gewebsbestandteile Parasiten sind, sei es daß die Gewebsläsion eine Folge der Zersetzung abgestorbener Früchte im Mutterleibe oder der chemisch auflösenden Wirkung des spezifischen Krankheitsprozesses ist oder beider Einflüsse gemeinsam. Hierbei wurde die Frage, ob die gekräuselten oder nach einigen Berichten sogar geraden Fasern wirklich Spirochäten sind, niemals gründlich erörtert, ebensowenig wie andererseits die Behauptung, daß die sich als echte Spirochäten charakterisierenden, neben anderen Saprophyten auf der Hautoberfläche bei Syphilis gefundenen Bakterien mit Syphiliserregung etwas zu tun haben.

Doch diese Bemerkungen sollen nur nebenbei die Aufmerksamkeit darauf lenken, wie mit viel Begeisterung und wenig Kritik verhältnismäßig einfache naturwissenschaftliche Probleme jahrelang erörtert werden können auf Grund einer dogmatischen Aeußerung einer Autorität.

Die vorliegende Abhandlung soll keine abschließende Monographie darstellen, da die Impfexperimente von mir voraussichtlich noch längere Zeit fortgesetzt werden und die fast täglich sich mehrenden Erfahrungen auf den Pfaden des so äußerst komplizierten Krankheitsvorganges, wie ihn die Syphilis nun einmal präsentiert, ein tieferes Eindringen in das Wesen der Krankheit versprechen, während vorläufig noch mancherlei vielfach verkettete Beziehungen, Bedingungen und Undurchsichtigkeiten das Bild verschleiern.

Wenn daher manches nur aphoristisch anderes breiter, zur Darstellung gekommen ist, so bitte ich darauf Rücksicht zu nehmen, daß der vorliegende Aufsatz mehr als eine vorläufige Mitteilung aufzufassen ist, der kein abschließendes Urteil prätendiert, ebensowenig wie die folgenden Teile der Abhandlung, die meine Untersuchungen über die Aetiologie sowie die Immunisierung enthalten werden.

Der bekannte norwegische Syphilisforscher Boeck (68) sagte 1875 nach Abschluß seiner Lebensarbeit, einer 22-jährigen Beschäftigung mit dem Problem der Syphilis, diese Reihe von Jahren sei ein kurzer Zeitraum für das „naturhistorische Studium" der Syphilis. Unter den veränderten Verhältnissen der Gegenwart, wo der Staat und hochherzige Privatstiftungen (Simon, Salomonsohn) große Mittel zur Verfügung gestellt haben, um die kostspieligen Untersuchungen mit Hilfe des Affenexperiments fortzuführen, dürfte die Hoffnung nicht unberechtigt erscheinen, daß die heute noch in dem ersten, aber verheißungsvollen Anfange stehenden Studien in einer erheblich kürzeren Zeit, vielleicht schon in einigen Jahren zu einem befriedigenden Abschluß gelangen könnten.

Zum Schluß möge noch eine kurze Zusammenfassung der wichtigsten von mir gefundenen Resultate der experimentellen Impfsyphilis folgen:

1) Die Uebertragungsmöglichkeit der Syphilis auf Kaninchen ist zuerst von mir und Schulze bewiesen, und zwar durch Weiterver-

impfung auf Affen. Dieses Faktum wurde später bestätigt durch Scherber und Neisser.

2) Es ist zuerst von mir nachgewiesen, daß mit den inneren Organen der mit Syphilis geimpften Affen weiter geimpft werden kann. Später von Neisser bestätigt.

3) Subkutane Impfung kann ebenso wie kutane eine Infektion hervorrufen. Diese vielfach bekämpfte Tatsache ist neuerdings von Neisser bestätigt.

4) Es gelingt, bei cynomorphen Affen, besonders bei Pavianen sekundäre Hauterscheinungen zu erzielen, ebenso deutlich, wenn auch nicht in demselben Prozentsatze, wie bei Schimpansen.

5) Es kommen bei cynomorphen Affen Erkrankungen innerer Organe besonders der Leber, vor, die vielleicht auf die Impfung zurückzuführen sind.

Für die gütige Ueberlassung syphilitischen Materials habe ich den Herren Geh.-Rat Prof. Dr. Bumm, Prof. Dr. Lassar, Prof. Dr. Rille, Dr. Saalfeld, Dr. Schlodtmann und Sanitätsrat Dr. Werler meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1) Proksch, Vierteljahresschr. f. Dermat. u. Syph. 1883.
2) Tarnovski, Arch. f. Dermat. u. Syph. 1896.
3) Piorkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1904; Deutsche med. Wochenschr. 1905.
4) Hügel und Holzhauser, Arch. f. Dermat. u. Syph. 1900.
5) Siegel, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2.
6) Legros, s. Lanceraux, Traité hist. et prat. de la syphil. 1873.
7) Bradley, Arch. f. Dermat. u. Syph. 1872.
8) Döhle, Münch. med. Wochenschr. 1897.
9) Auzias-Turenne, Gaz. des hôpit. 1844.
10) Waller, Prager Vierteljahresschr. 1851.
11) Haensell, Gräfes Arch. 1881.
12) Scherber, Wiener klin. Wochenschr. 1906.
13) Neisser, Die experimentelle Syphilisforschung. 1906.
14) Schulze, W., Med. Klinik. 1905; Klin. Monatsbl. f. Augenheilkunde. 1905; Zieglers Beitr. 1906.
15) Bertarelli, Centralbl. f. Bakt. etc. 1906.
16) Schulze, W., Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 37 u. 51.
17) Saling, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI, XLII u. XLIII; Wiener klin. Rundsch. 1906. No. 47 u. 48 u. 1907; Sitzungsber. naturf. Freunde. 1906.
18) Friedenthal, H., Berliner klin. Wochenschr. 1906. No. 37 u. 1907. No. 4.
19) Klebs, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. 1879.
20) Martineau, Arch. f. Dermat. u. Syph. 1884.
21) Neumann, Wiener klin. Wochenschr. 1905.
22) Zabolotny, Arch. de. science biol. de St. Pétersbourg. 1905.
23) Nicolle, Ann. Inst. Pasteur. 1903.
24) Sperk, Oeuvres compl. 1896.
24a) Hamonic, Revue d'Andrologie et de Gynäkol. 1903.
25) Friedenthal, P., Prospekt d. Ges. dtscher Naturf. u. Aerzte. Hamburg 1903 u. Verhandl. derselben. Kassel 1904.
26) Metschnikoff u. Roux, Ann. Inst. Pasteur. 1903.
27) Lassar, Dermat. Zeitschr. 1904. Heft 1 u. Berl. klin. Wochenschr. 1903.
28) Neisser, Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 38.
29) Finger und Landsteiner, Sitzungsber. d. Wiener Akad. d. Wiss. 1905 u. 1906.
30) Siegel, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 28 u. 29 und Centralbl. f. Bakt. etc. 1906. Bd. XXXII.
31) Metschnikoff et Roux, Ann. Inst. Pasteur. 1904.
32) Béclère, Chambon et Ménard, Ann. Inst. Pasteur. 1896.
33) Vanselow und Freyer, Zur Prüfung der Impfstofffrage. II. Ber. 1899.
34) Neisser, Zeitschr. f. Bekämpfung d. Geschlechtsk. 1906. Heft 7.

dur.

'rgane
Spät

on be
eiss-

vian-
a a.

)rga
füh:

h .
Ril
neir

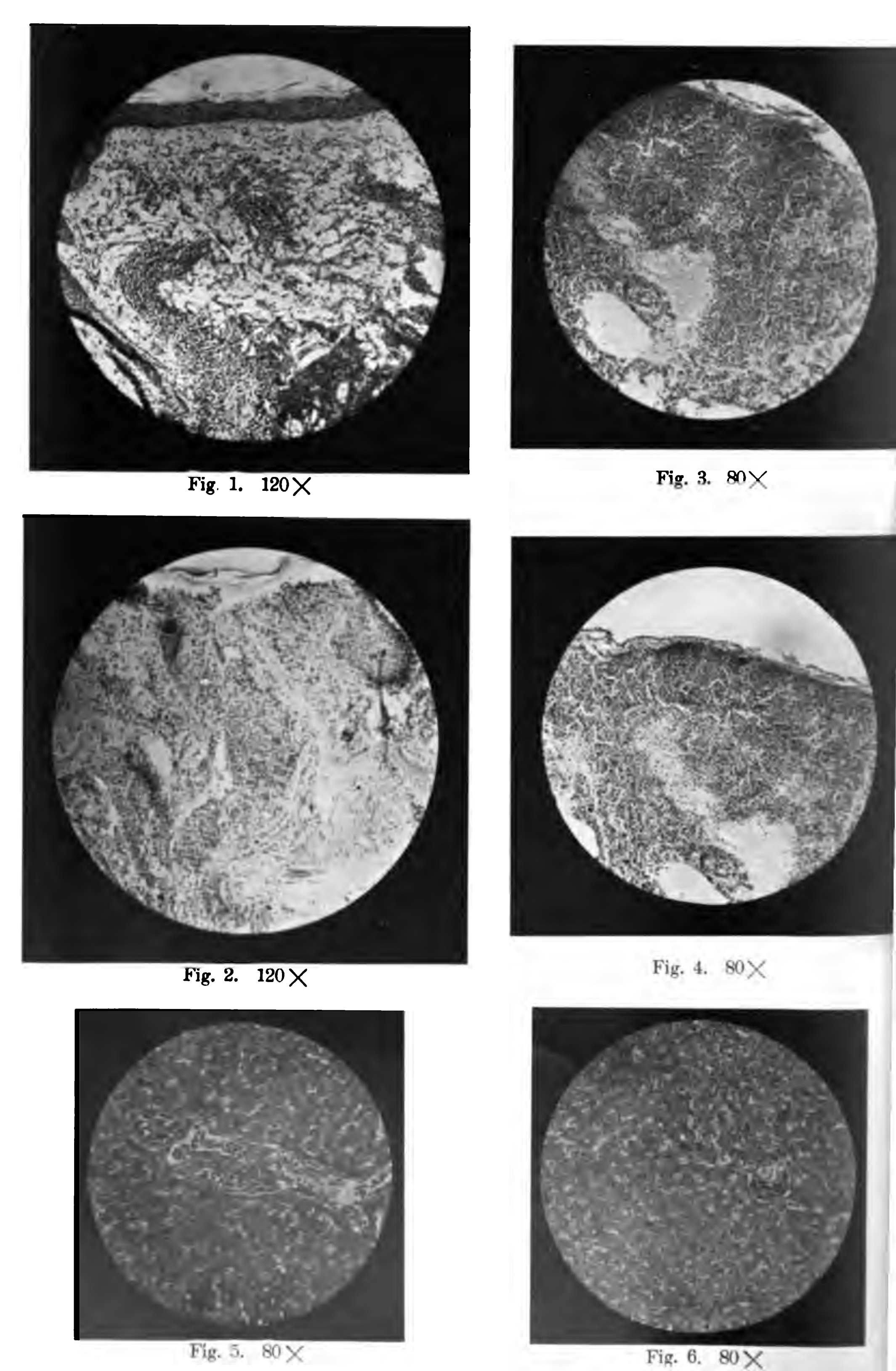


Fig. 1. 120×

Fig. 3. 80×

Fig. 2. 120×

Fig. 4. 80×

Fig. 5. 80×

Fig. 6. 80×

35) Tschlenow, Ref. Monatsh. f. prakt. Dermat. Bd. XLIII. Heft 10.
36) Kjer-Petersen, Ueber d. numerisch. Verhältnisse d. Leukocyten bei d. Lungentuberkulose. Würzburg 1906.
37) Hochsinger, Studien über hereditäre Syphilis. 1898.
38) Lassar, Berliner klin. Wocheuschr. 1906. No. 4. p. 110 u. 111.
39) Neisser, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 1—3.
40) Auspitz, Die Lehre vom syphilitischen Contagium. 1866.
41) Welz, Die Einimpfung der Syphilis auf Tiere. 1851.
42) Kraus, Wiener klin. Wochenschr. 1906.
43) Siegel, Abhandl. der Kgl. Preuß. Akad. d. Wiss. 1905.
44) —, Deutsche med. Wochenschr. 1898. No. 47 u. 48 und Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 33.
45) Spanudis, Ueber kongenitale Lungensyphilis. Freiburg 1891.
46) Nobl, Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 32.
47) Tedeschi, Trieste Tip. d. soc. de tipografi. 1901; zit. nach 46.
48) Rouget, Compt. rend. de la soc. de biol. 1905. No. 21.
49) Casagrandi, Riform. medic. 1903. No. 31.
50) —, Annali d'Igiene sperimentale. T. III. 1906.
51) Negri, Gazzetta med. Italiana. 1905 und Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1906.
52) Remlinger et Nouri, Compt. rend. de la soc. d. biol. 1905.
53) Bäumler, Ziemssens Handb. Bd. XV. 1886.
54) Gerhardt, Arch. f. klin. Med. Bd. XII.
55) Fürbringer, Eulenburgs Realencyclop. (Masern).
56) Friedberg und Fröhner, Pathol. u. Ther. d. Haustiere. 2. Aufl. 1889.
57) Rouget, Ann. Inst. Pasteur. 1896.
58) —, Compt. rend. de la soc. de biol. 1904.
59) Mühlens und Hartmann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1906.
60) Ehrenberg, Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig 1838.
61) Schaudinn, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. 1904.
62) Bütschli, Ueber d. Bau d. Bakterien u. verwandter Organismen. 1890; Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen u. Bakterien. 1896; Arch. f. Protist. 1902.
63) Thesing, Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde. 1905 und Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3.
64) Koch, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 47.
65) Zettnow, Deutsche med. Wochenschr. 1906.
66) Novy und Knapp, zit. nach Münch. med. Wochenschr. 1906.
67) Woodcock, Quart. Journ. of microscopic science, new series. 1906.
68) Boeck, Erfahrungen über Syphilis. 1875.
69) Brinckerhoff u. Tyzzer, Philippine Journ. of science. 1906.
70) Wenyon, Journ. of hyg. 1906.

Figurenerklärung.

Fig. 1. Schnitt durch eine Sekundärpapel.
Fig. 2. Desgl.
Fig. 3. Schnitt durch einen Lungenknoten.
Fig. 4. Desgl.
Fig. 5. Schnitt durch erkrankte Leber.
Fig. 6. Desgl.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

Fig. 1. Pavian, 14 Tage nach der Impfung, die folgendermaßen vorgenommen wurde: Die Bauchhaut war in 4 Quadraten eingeteilt und jedes mit ca. 20 tiefen Schnittlappenwunden versehen. Oben rechts Niere, links Milz — unten rechts Leber, links Blut eines mit als hochvirulenten Material subkutan geimpften Kaninchens verimpft. Die Wunden heilten zunächst nach 3-tägiger Reaktion, schwollen dann nach 14 Tagen an, am meisten rechts unten, am wenigsten links unten. Nach 4 Wochen waren sämtliche Wunden reaktionslos verheilt, nur rechts unten hatten sich 3 Papeln entwickelt. Seltener Fall positiver Impfung der Bauchhaut.

Fig. 2. Pavian, Sekundärpapeln auf Bauch, Brust und Achselhöhle. 9 Wochen nach der Kutanimpfung an der rechten Augenbraue.

Fig. 3. Babuin geimpft an rechter Augenbraue, Lid und Vorhaut mit menschlichem Primäraffekt. Nur an Augenbraue entstehen Papeln in der 3. Woche. Das Bild ist aufgenommen in der 5. Woche, als die Papeln an der Augenbraue zurückgingen und an Bauch, Brust, Oberschenkeln ein allgemeiner Ausbruch von Sekundärpapeln erschien.

Tafel II.

Fig. 4. Macacus rhesus. Primäraffekte in der 3. Woche nach Impfung mit gemischter Leber-Milz-Nierenemulsion eines 5 Wochen nach positiver Kutanimpfung getöteten Mangaben.

Fig. 5. Schimpanse. Die beiden positiven unter 8 Impfstellen an den Brauen in der 3. Woche nach der Impfung mit Kaninchenleber-Milzemulsion.

Fig. 6, 8, 9. Rhesusaffen, 7. Mangabe. Verschiedene Formen von Primäraffekten.

Fig. 10. Mangabe. Sekundärerscheinungen in der 11. Woche nach kutaner Impfung an den Augenbrauen mit Sklerose vom Menschen.

Fig. 11. Verschorfende Primäraffekte in der Schamgegend eines Rhesus, in der 7. Woche nach Impfung mit Sklerose vom Menschen.

Fig. 12 und 13. Pavian, Primäraffekt an der Braue und sekundäre Mundgeschwüre. Dasselbe Tier wie Fig. 2. Beschreibung im Text.

Die sämtlichen Bildern zu Grunde liegenden Photogramme sind zur Kontrolle aufgehoben. Von einer Reproduktion derselben wurde Abstand genommen, da Hautveränderungen ohne Hilfe der farbigen Darstellung undeutlich wirken.

Untersuchungen über Spirochaeta pallida und einige andere Spirochätenarten, insbesondere in Schnitten.

[Aus dem königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin. (Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky. Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Frosch.)]

Von Marinestabsarzt Dr. **P. Mühlens.**

Mit 2 Tafeln Mikrophotogrammen von Prof. Dr. Zettnow.

Die Literatur über die Spirochätenbefunde bei Syphilis, insbesondere die Bedeutung der *Spirochaete pallida* für die Aetiologie der Syphilis, ist in neueren Arbeiten von Glass (13), Buschke und Fischer (6) sowie Hoffmann (15) zusammengestellt und eingehend bearbeitet. Es sei mir daher gestattet, damit nicht Bekanntes unnütz wiederholt werde, möglichst ohne Erwähnung der bezüglichen Literatur meine Untersuchungsresultate im folgenden kurz zusammenzustellen. Nur bezüglich der Kritiken, die seit einiger Zeit in scharfen Worten an der *Spirochaete pallida* geübt werden, ist eine Heranziehung der Literatur teilweise nicht zu umgehen.

A. Material und Untersuchungsmethoden.

Untersuchungsmaterial von frischen syphilitischen Produkten wurde mir von dem Oberarzt der venerischen Abteilung der Heilstätte Lichtenberg, Herrn Dr. Pielicke, der sich auch mit seinem Assistenten, Herrn Dr. Schmidt, an den Untersuchungen öfters beteiligte, jederzeit in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Dem Chefarzt des Garnisonlazaretts I, Herrn Oberstabsarzt Dr. Schmidt, verdanke ich die Erlaubnis, das Material des Lazaretts zu benutzen, wobei mich die Sanitätsoffiziere der Station sowie Stabsarzt Dr. Hübener stets bereitwilligst unterstützten. Schnittmaterial erhielt ich durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Geheimrat Orth und Privatdozent Dr. Beitzke,

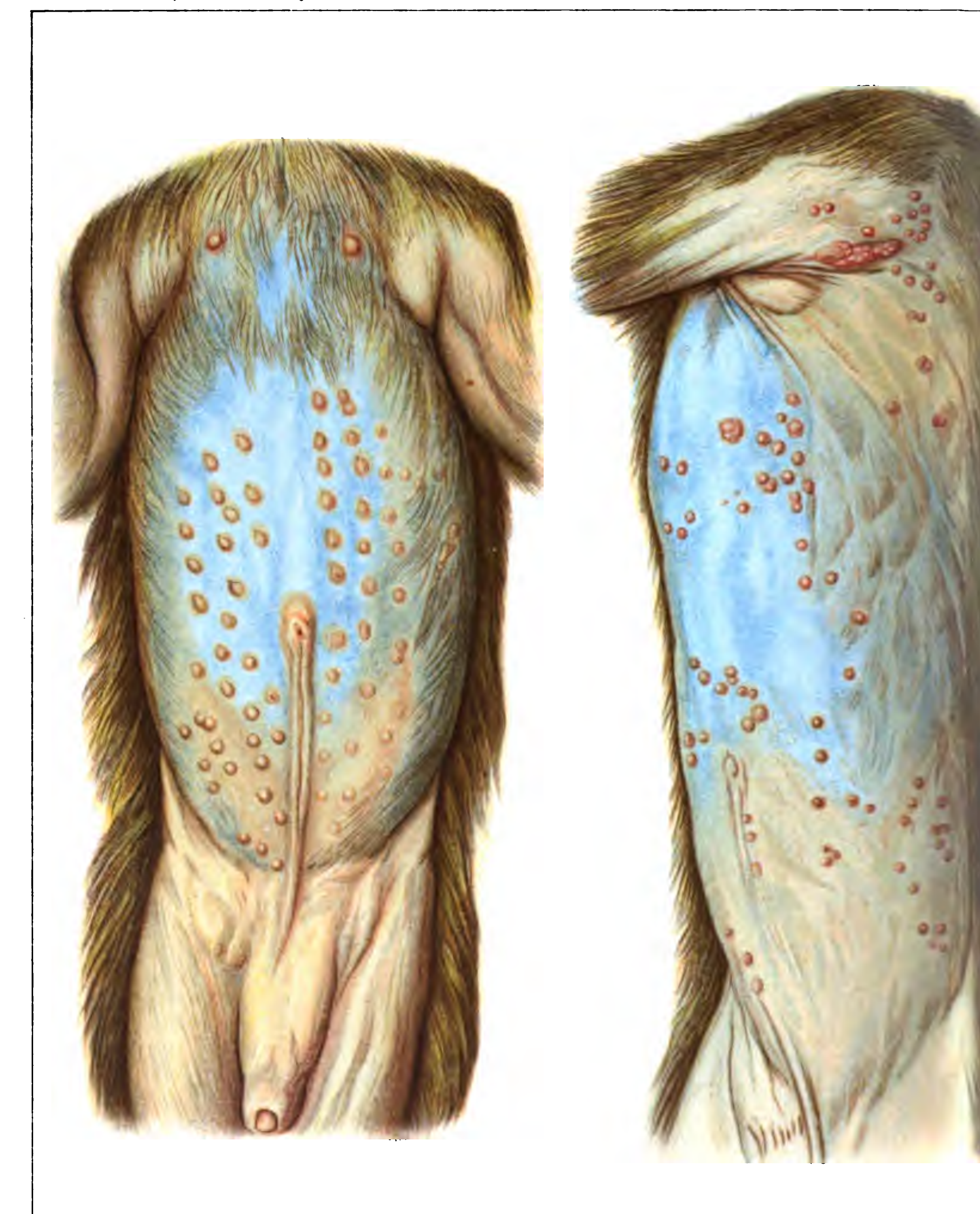
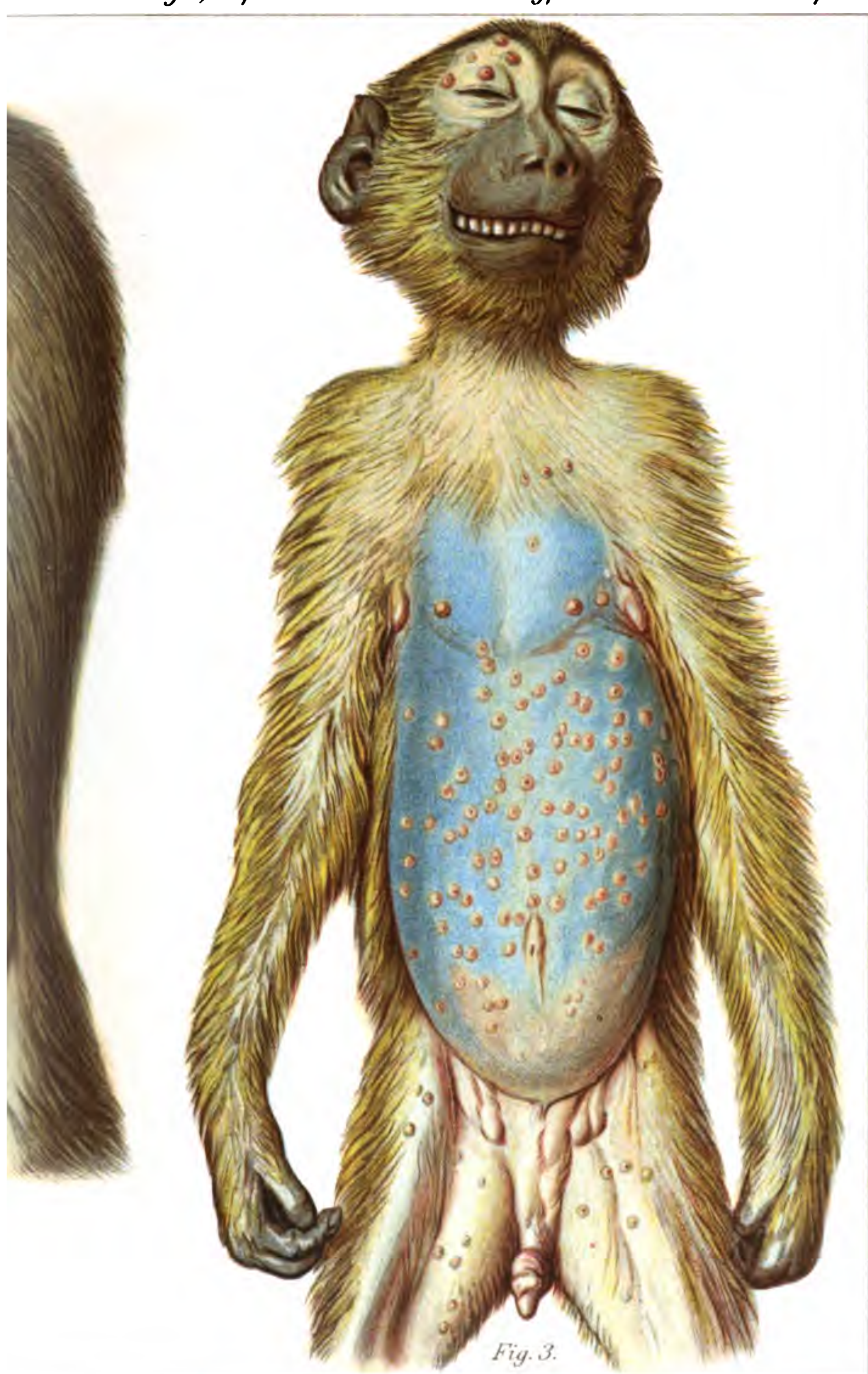


Fig. 1.

Fig. 2.

A. Schmitson gem.

Verlag v Gustav Fisc…



er. Jena.

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena.

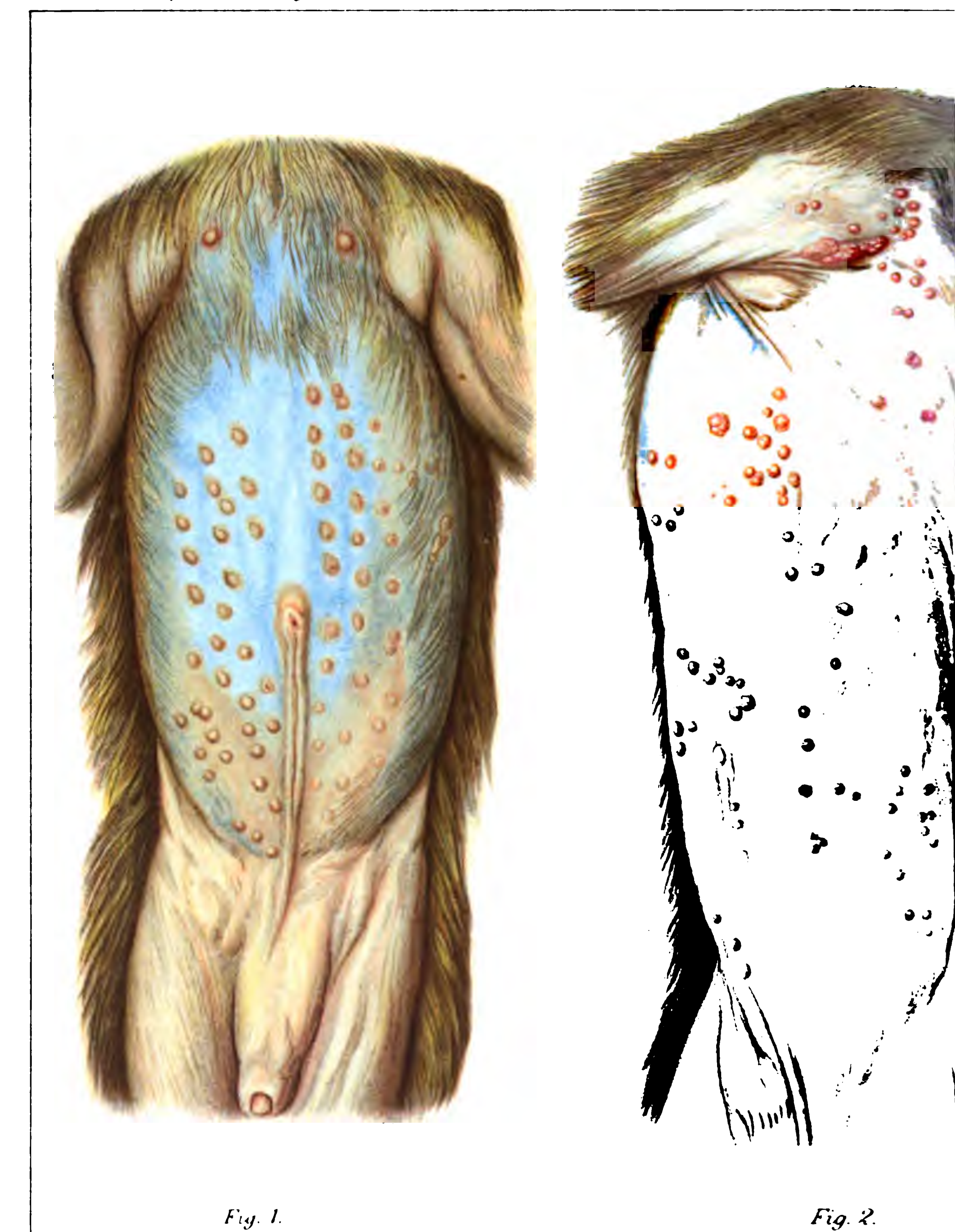
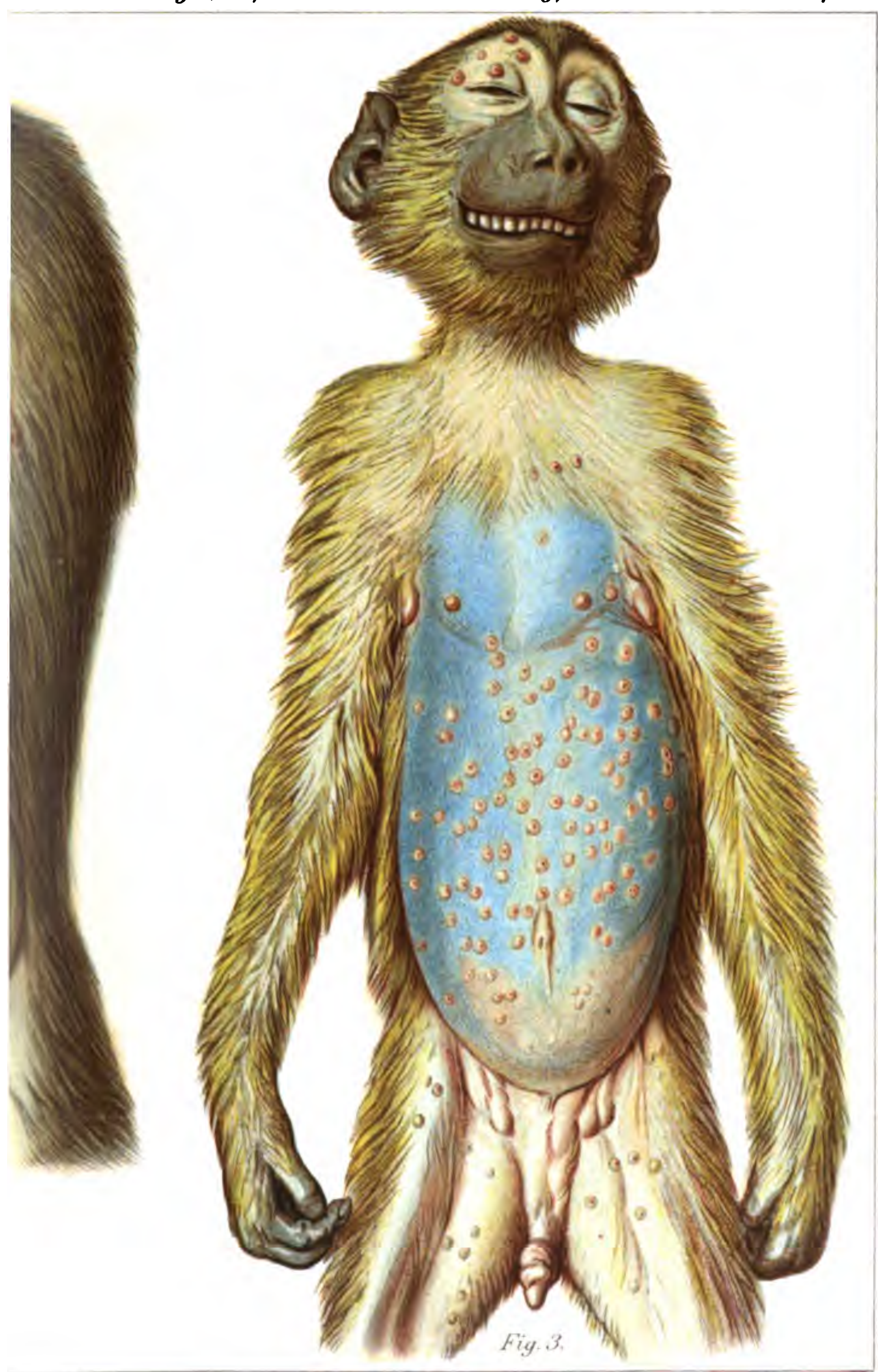


Fig. 1.

Fig. 2.

A. Schmitson gem.

Verlag v. Gustav Fisc



her. Jena.

Lith Anst v K Wesser, Jena.



A. Schmitson gem.

Verlag v. Gustav

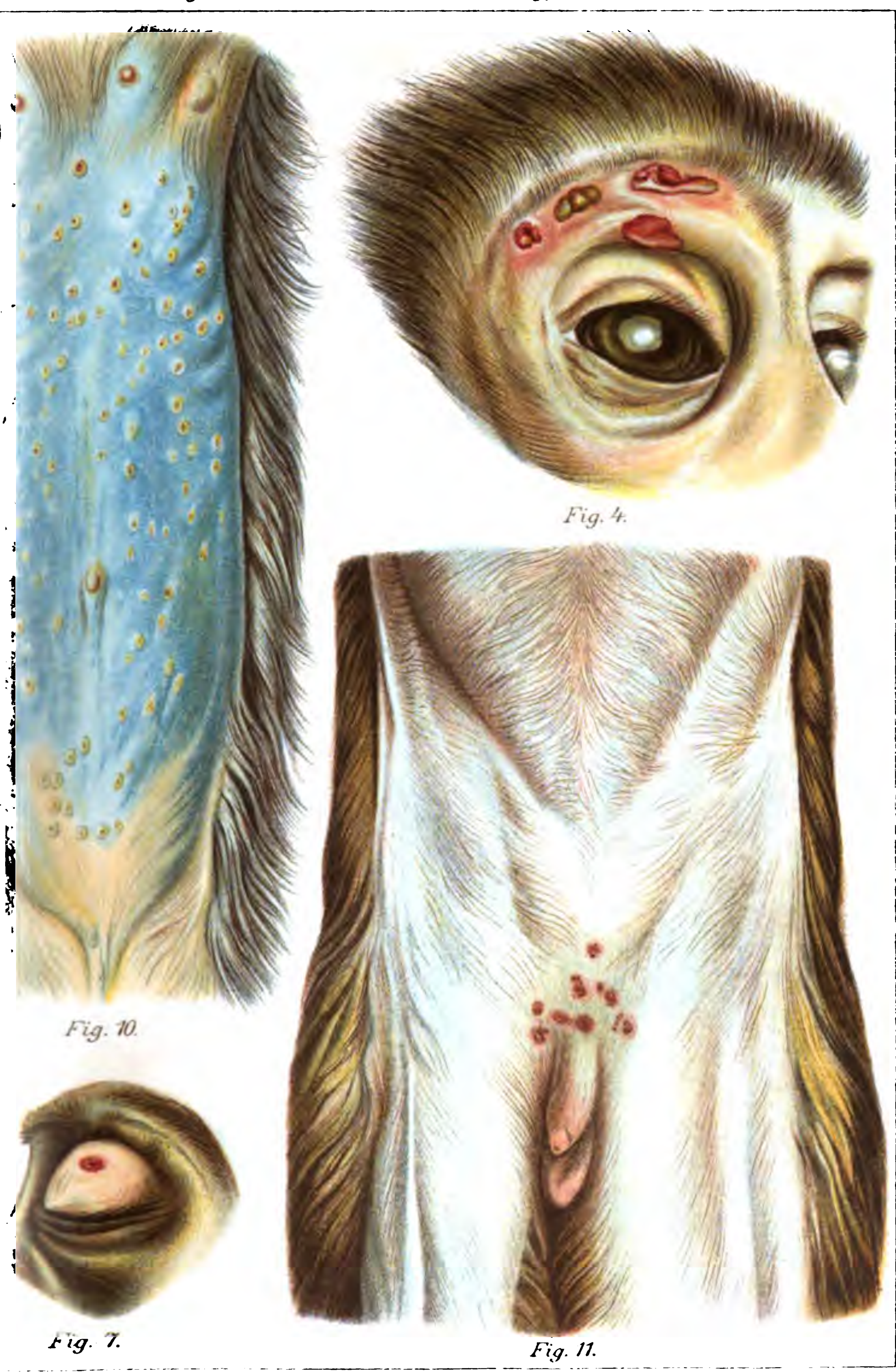


Fig. 10.

Fig. 4.

Fig. 7.

Fig. 11.

ischer, Jena

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena



Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 12.

Fig. 9.

Fig. 13.

Fig. 8.

A Schmitson gem.

Verlag v. Gustav F

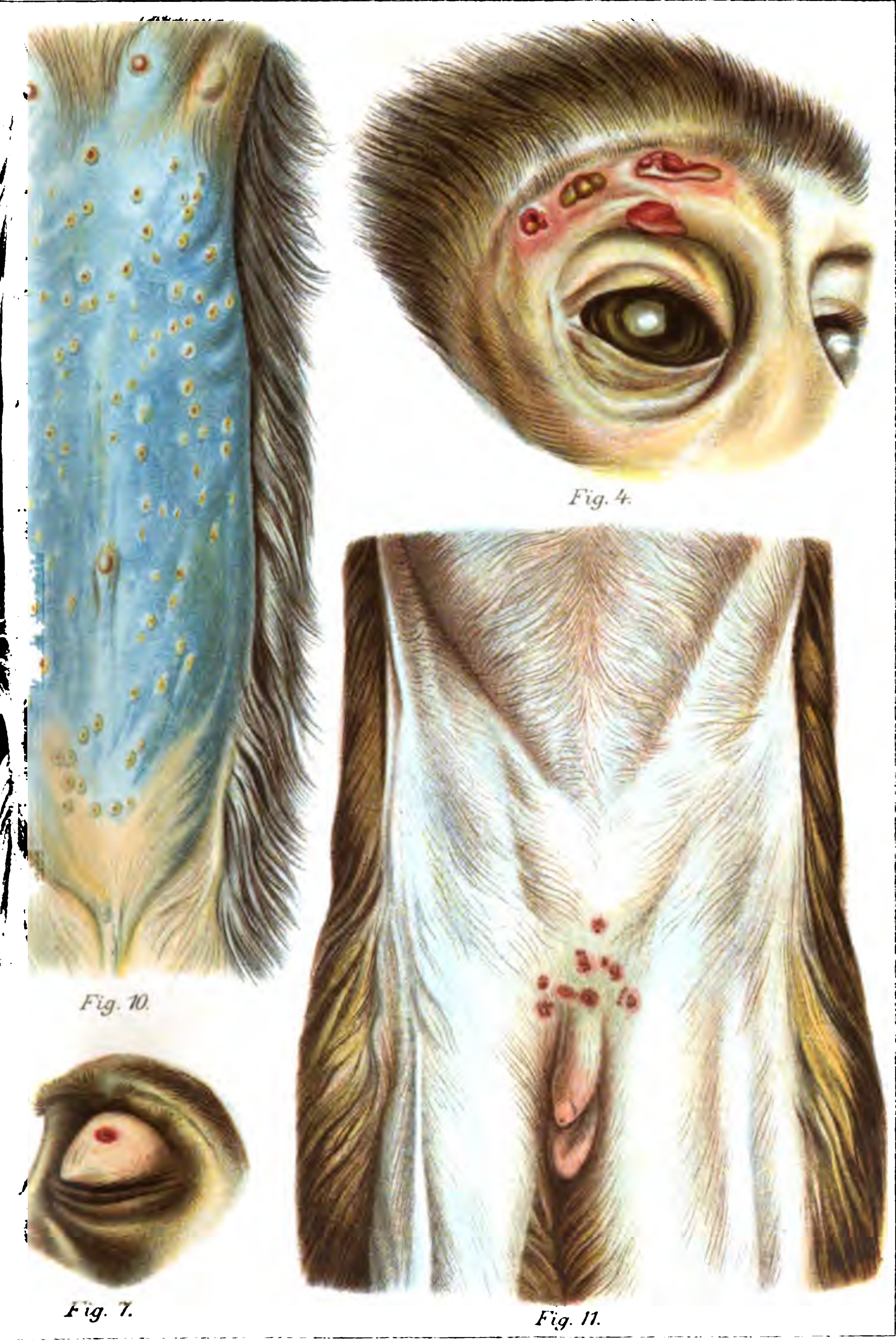


Fig. 10.

Fig. 4.

Fig. 7.

Fig. 11.

.Fischer, Jena

Lith. Anst. v. K. Wesser, Jena

ferner von Herrn Sanitätsrat Dr. Orthmann und seinen Assistenten, weiterhin von Herrn Medizinalrat Dr. Stüler. Auch untersuchte ich aus der Klinik des Herrn Geheimrat Bumm stammendes Material, das gleichzeitig auf der Abteilung von Herrn Professor Wassermann in unserem Institut auf spezifische Reaktion (Komplementablenkung) von Dr. Plaut geprüft wurde. Von derselben Abteilung wurde mir auch noch anderes Untersuchungsmaterial zur Verfügung gestellt. Das auf Komplementablenkung untersuchte Material der Bummschen Klinik wurde auch gleichzeitig von Herrn Dr. Bab (Frauenklinik) nach Levaditi gefärbt. [Vergl. die diesbezügliche Arbeit (1).] Es sei schon gleich hier angeführt, daß unsere Resultate stets übereinstimmten. Bab hatte nach der ursprünglichen Vorschrift (3 Tage Versilberung) gefärbt, während ich nach Beitzkes (2) Vorschlag verfuhr (6 Tage Versilberung und 2 Tage Reduktion in Pyrogallollösung). Auch mir erwies sich diese Modifikation, bei der der Versilberungsprozeß allerdings länger dauert, als sehr zuverlässig. Sehr häufig waren die Bilder fast völlig niederschlagsfrei. Besonderen Wert legte ich darauf, daß das sämtliche bei der Färbung etc. verwendete Wasser absolut kochsalzfrei war. Alle Prozeduren wurden im Dunklen vorgenommen. Wenn angängig, wurden gleichzeitig Syphilis- und Kontrollmaterial mit denselben Lösungen gleichmäßig behandelt, um eine möglichst genaue Kontrolle zu haben. So lange wir nicht mit Reinkulturen der *Pallida* zu arbeiten in der Lage sind, vielmehr auf den regelmäßigen und ausschließlichen Nachweis der *Sp. pallida* in syphilitischen Produkten angewiesen sind, erscheinen die Kontrolluntersuchungen nicht minder wichtig als die positiven Befunde. Bei meinen Untersuchungen an Gewebsschnitten wurde in letzter Zeit in zahlreichen verschiedenartigen Kontrollen besonderer Wert gelegt auf eine Nachprüfung der Angaben von W. Schulze (31), Friedenthal (10), Saling (25, 26, 27) und Siegel (33), die ja bekanntlich die nach der Volpino-Bertarelli-Levaditi-Methode dargestellten „Silberspirochäten" nicht für identisch mit der nach Giemsa färbbaren resp. lebend nachweisbaren *Sp. pallida* halten, sondern für Gewebsbestandteile, Bindegewebs- und elastische Fasern, Nervenfasern, Nervenendfibrillen und dergleichen.

Neben der Schnittuntersuchung der Organe habe ich, wenn möglich, auch die Untersuchung von Organsaftausstrichen mir angelegen sein lassen, auch bei den Kontrollen. Diese stellte ich mir gleichmäßig in der Weise her, daß ich mit etwa bohnengroßen Organstückchen auf Objektträgern (eventuell vorher osmierten) unter leichtem Aufdrücken der Stückchen Tupfpräparate machte, so daß ich die auf einem Objektträger vorhandenen 10—20 Tupfstellen gleichzeitig färben konnte. Zweckmäßig ist es, blutreiche Organstücke vorher auf dem Boden einer sterilen Petri-Schale einige Male abzutupfen, damit die Ausstriche nicht zu dick werden. Die lufttrockenen Präparate wurden etwa 5 Minuten in 96-proz. Alkohol fixiert und alsdann gleich in Giemsa-Lösung[1]) (1 Tropfen auf 1 ccm Wasser) etwa 20—24 Stunden bei Zimmertemperatur gefärbt, indem die Objektträger, an den Enden auf kleinen Glasstäbchen aufliegend, mit der bestrichenen Seite nach unten zeigten. Ich erhielt im allgemeinen auf diese Weise gut gefärbte Präparate. Durch

1) Ich möchte sehr empfehlen, den Giemsa-Farbstoff vor den Untersuchungen durch Färben eines sicher die *Spir. pallida* enthaltenden Präparates auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen; denn ich habe Giemsa-Farbstoff gehabt, mit dem sich die *Spir. pallida* nicht färbte.

das Auftupfen wird die Entstehung von fädigen Ausstrichprodukten möglichst vermieden [1]).

Das Schankermaterial wurde in folgender Weise verarbeitet: Nach guter Reinigung und Abspülung mit steriler Kochsalzlösung sowie Trocknen der Oberfläche wurde der Schanker durch leichtes Drücken der harten Ränder massiert, bis Sekret herauskam. Solches war nach einigem Warten (5—10 Minuten), auch bei schon geschlossenen Primäraffekten nach Entfernung des Epithels stets reichlich vorhanden. Von dem Saft wurde je eine kleine Platinöse voll auf gut gereinigtem Deckglas ausgestrichen, derart, daß in der Mitte beginnend nach außen schnell weitere Kreise gezogen wurden. So erhält man sehr dünne, ziemlich gleichmäßige Ausstriche, die schnell lufttrocken werden. Nach Alkoholfixierung Färben in Giemsa-Lösung in kleinen Blockschälchen (bestrichene Seite nach unten) 3—20 Stunden. Sämtliche Präparate wurden untersucht mit einem durchaus guten Mikroskop, also Zeiss Apochromat 2 mm Apert. 1,30 und Kompensationsokularen 6—12; in der Regel genügte Okular 6 vollkommen. Zur Beleuchtung diente Auer-Gasglühlicht, das durch eine mit Glycerin gefüllte Schusterkugel geleitet wurde. Ich halte mit den meisten *Pallida*-Untersuchern ein gutes Mikroskop und eine gute Beleuchtung für die conditio sine qua non. Jeder, der sich mit *Pallida*-Suchen beschäftigt hat, weiß, wie schwierig anfangs oft der Nachweis in Abstrichpräparaten sein kann, er weiß aber ebensogut, daß nach längerer Uebung das Auffinden der Spirochäte viel leichter wird. Es ist zweifellos, daß viele negative Resultate — die übrigens jetzt viel seltener sind als zu Anfang der Spirochätenforschung — durch mangelhafte Technik oder durch Ungeübtheit des Auges im Erkennen der außerordentlich feinen Gebilde zu erklären sind, wie schon Schaudinn hervorhob. Nach meinen Erfahrungen muß das Auge bei jeder Untersuchung erst akkommodieren. Man darf sich nicht damit begnügen, ein Gesichtsfeld mit dem Blick zu überfliegen, man muß vielmehr unter Spielenlassen der Mikrometerschraube die einzelnen Abschnitte desselben nacheinander scharf einstellen und einzeln durchmustern. Nur so ist es häufig möglich, den Spirochätennachweis in Ausstrichen und bei Lebenduntersuchung — bei der uns neuerdings die Dunkelfeldbeleuchtung [vergl. Landsteiner und Mucha (17)] zu Hilfe kommt — zu erbringen. Ich möchte hier noch eine Beobachtung anführen, die ich häufiger gemacht habe. Mitunter fand ich in Präparaten, namentlich in Organsaftausstrichen, bei der ersten Untersuchung am Tage keine oder nur ganz vereinzelte Spirochäten. Untersuchte ich dann aber dasselbe Präparat abends im dunklen Zimmer bei der auch am Tage angewendeten Beleuchtung, dann fand ich oft die *Pallida* leicht, mitunter gleich im ersten Gesichtsfeld, und war manchmal erstaunt über die Menge der vorhandenen, am Tage unter dem Einfluß des störenden Neben-(Tages-)lichtes übersehenen Spirochäten. In letzter Zeit untersuchte ich daher stets unter Abschluß vom Tageslicht. Ich halte es für durchaus notwendig, auf die angeführten Punkte hinzuweisen, um zu zeigen, daß viele von den in der Literatur berichteten negativen Untersuchungsresultaten mit Recht kritisch betrachtet werden dürfen.

1) Dieselbe Methode wurde kürzlich von Hoffmann in der Berl. mediz. Gesellschaft (27. Febr. 1907) empfohlen. Vergl. auch die eben erschienene Arbeit von Sticker, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIII. H. 2.

B. Spirochätenbefunde bei Schankeruntersuchungen.

In den von mir untersuchten 20 typischen Primäraffekten sowie 2 gemischten Geschwüren mit folgenden Sekundärerscheinungen (Mikrophot. Tafel II, Fig. 2, 3 u. 4) entstammenden Ausstrichpräparaten war regelmäßig die *Sp. pallida* nachzuweisen. In 4 von mir untersuchten breiten Kondylomen war sie ebenfalls vorhanden. Manchmal war die Zahl der Spirochäten eine sehr große, und zwar fast in Reinkultur (siehe Mikrophot. Tafel II, No. 5); kaum ein anderer Mikroorganismus war daneben zu finden, so z. B. in einem Primäraffekt, der überhäutet war, nach Entfernen der Epitheldecke. Manche Gesichtsfelder zeigten bis zu 10 oder noch mehr Spirochäten vom *Pallida*-Typus, d. h. sie entsprachen den Kriterien, die Schaudinn und Hoffmann (28) für die *Pallida* aufstellten [vergl. auch Mühlens und Hartmann (20) p. 105 sowie Hoffmann (15) p. 56]. Außer diesen den Grundtypus zeigenden Exemplaren fanden sich in gefärbten Präparaten nicht selten auch andere, bei denen die Windungen nicht alle gleichmäßig steil, korkzieherartig waren. Ich sah Spirochäten, die neben einer Anzahl steiler Windungen auch flachere aufwiesen, mitunter an einem oder beiden Enden, bisweilen auch in der Mitte, so insbesondere auch einmal in Leistendrüsenpunktionssaft, der neben zahlreichen typischen *Pallidae* auch solche gewissermaßen ausgezogene Formen enthielt von derselben Größe und Färbung; daneben waren keinerlei andere Mikroorganismen vorhanden. Ferner fand ich auch Formen, bei denen die Enden aufgerollt waren oder knopfartige Verdickungen zeigten, die auch schon von anderer Seite beschrieben sind. Diese Verdickungen sind meiner Ansicht nach kein zufälliger Befund. Ich sah ähnliche mit Hartmann auch häufig in Zahnspirochäten-Reinkulturen, sowie ferner auch bei *Balanitis*-Spirochäten (Tafel II, Fig. 2). Ihre Bedeutung ist noch unaufgeklärt. Anscheinende Teilungsbilder der *Pallida*, die denen in der Literatur beschriebenen entsprechen, waren in einzelnen Präparaten nicht selten.

Die beschriebenen, vom Grundtypus abweichenden Formen waren zweifellos zu der *Spirochaete pallida* zu rechnen, u. a. auch auf Grund der gleichen roten Färbung sowie der gleichen Größenverhältnisse, zumal deutlich die Uebergänge zwischen den einzelnen Formen zu verfolgen waren. Es muß als selbstverständlich angesehen werden, daß bei so flexiblen Gebilden, wie es Spirochäten sind, in Ausstrichpräparaten je nach der Art des Ausstreichens, des Antrocknens, des fixierten Bewegungszustandes u. s. w. verschiedenartige Bilder zu stande kommen können. Solche können auch durch Degeneration oder Absterben bedingt sein. Auch in Ausstrichen von Reinkulturen der *Spirochaete dentium*, wo es sich sicher um denselben Typus handelt, gleicht lange nicht eine jede Spirochäte der anderen. Ich sah in Kulturausstrichen derartig ausgezogene Exemplare, daß die Spirochäte ohne weiteres als solche nicht mehr zu erkennen war, sondern eher einem langen Bacillus ähnlich sah. (Vergl. Mühlens und Hartmann (20), Abb. Tafel II und III, sowie diese Arbeit, Tafel II, Fig. 8). Auch in Ausstrichpräparaten von Recurrens- oder Hühnerspirochäten sind selbst in demselben Präparate die Spirochäten keineswegs alle untereinander gleich im Aussehen. Und dennoch kann man ebenso wie bei den Zahnspirochäten einen Grundtypus aufstellen. Bei allen vergleichenden Forschungen muß man sich an den

vorherrschenden Typus halten, der bei Spirochätenuntersuchungen in der Regel bald herauszuerkennen ist für den, der sich auch nur kurze Zeit ernstlich mit solchen beschäftigt hat. In zweifelhaften Fällen wird die Lebenduntersuchung (Dunkelfeldbeleuchtung) die *Pallida* sicher von anderen Spirochätenarten unterscheiden lassen [Landsteiner und Mucha (17) u. a.]

Ich glaubte, auf diese Punkte so gründlich eingehen zu müssen, weil in manchen Kritiken seit einiger Zeit die Morphologie der *Pallida* in geradezu spöttischer Weise behandelt wird. Wie wenig eine derartige Behandlung einer so wichtigen wissenschaftlichen Frage berechtigt ist, glaube ich in den vorstehenden Ausführungen hinreichend nachgewiesen zu haben.

In den aus dem Reizsaft typischer Primäraffekte hergestellten Präparaten fand ich die durch ihre Größenverhältnisse, den bläulichen Farbenton (bei Giemsa-Färbung) und die gröberen Windungen leicht kenntliche *Sp. refringens* recht selten, und dann nur in ganz vereinzelten Exemplaren. Dagegen sah ich häufiger den Bacillus fusiformis, dessen Vorliebe zur Symbiose mit Spirochäten bekannt ist [Mühlens und Hartmann (20)]. Außerdem fielen mir mitunter auch eigenartige piroplasmaähnliche, bläulich gefärbte Gebilde auf, in denen 2 rote Punkte (Chromatin?) eingelagert waren, deren einer häufig größer war als der andere. Aehnliche Gebilde sah ich auch einige Male in Organsaftausstrichen, einmal eines mit einem geißelartigen Fortsatz [vergl. auch die Befunde von Schaudinn (28), sowie Wechselmann und Loewenthal (36)].

Bei Kontrolluntersuchungen von weichen Schankern und den verschiedenen Formen der Balanitis sowie von spitzen Kondylomen (im ganzen 9 Fälle) fand ich niemals eine *Sp. pallida* oder eine Spirochäte, bei der ich vor Verwechselung mit dieser nicht sicher gewesen wäre. Die Balanitis-Spirochäten [= *Refringens*? vergl. Hoffmann und v. Prowazek (16)] sah ich in großer Anzahl in Ausstrichen von Balanitis erosiva, einmal auch in einem Ulcus mixtum (Tafel II, Fig. 2, 3 u. 4). Sie sind leicht durch ihre bläuliche Färbung und die groben Windungen von der *Pallida* zu trennen. Interessant war ein Präparat, in dem ich die Spirochäten mehrfach in großen Epithelzellen gelagert fand (vergl. Mikrophot. Tafel II, Fig. 7).

C. Untersuchungen von Leistendrüsen.

Leistendrüsensaft bei bestehendem Primäraffekt habe ich 7 mal untersucht; in 6 Fällen fand ich die *Pallida*, ohne Beimengung irgend welcher Bakterien.

Außerdem punktierte ich einmal einen aus unbekannter Ursache entstandenen indolenten Bubo. Da dieser Fall mir für die ätiologische Bedeutung der *Pallida* von größter Wichtigkeit zu sein scheint, will ich denselben eingehend besprechen.

Anamnese: Die Angaben sind absolut zuverlässig. Vor 7 Jahren Tripper, angeblich schwer heilend. Infolge ziemlich enger Vorhaut Neigung zu Balanitis. Vor 3 Jahren anscheinend Balanitis, die in spezialärztlicher Behandlung mit Kartoffelmehlpuder sofort heilte. Niemals schankerähnliche Geschwüre oder Ausschlag bemerkt. Patient achtet sehr auf seinen Körper bei sportlicher Tätigkeit und täglichen Douchen. — Vor $1^1/_2$ Jahren nach anstrengendem Rudern plötzlich Drüsenanschwellung in beiden Leisten. Ich sah dieselben selbst; es bestanden beiderseits 3—5 kleine indolente Drüsen. Damals wurde auf syphilitische Erscheinungen hin untersucht. Kein Anhalt für Lues. Die Drüsenschwellungen gingen durch Ruhe ohne jede weitere Behandlung bald zurück. Bei geschlechtlichem

Verkehr wurde stets große Sorgfalt auf Desinfektion verwendet. Letzter Coitus Mitte Dezember 1906.

Am 27. Dez. 1906 wurde zufällig ohne voraufgegangene Schmerzen in der linken Leistenbeuge eine Anschwellung bemerkt, die ich am 3. Jan. 1907 sah. Am 6. Jan. punktierte ich die haselnußgroße, harte, indolente Drüse, ohne daß ich Syphilisverdacht hatte, eigentlich zur Kontrolle. In Giemsa-Ausstrichen fand ich sodann zu meiner großen Ueberraschung ziemlich viele (in manchen Gesichtsfeldern 2—3) typische *Spirochaetae pallidae*, daneben auch einzelne atypische ausgezogene Formen, aber keine anderen Spirochätenarten (*Refringens*) oder sonstige Mikroorganismen. Nunmehr wurden genaue körperliche Untersuchungen vorgenommen, an denen sich ebenso wie an der Beurteilung der Präparate und an Affen- und Kaninchenimpfungen Herr Stabsarzt Dr. Roscher von der Lesserschen Klinik in dankenswertester Weise beteiligte. Dabei fand sich rechts eine bohnengroße Cubital- sowie auf derselben Seite eine kleine postaurikulare Drüse. Auffallend sahen ferner leichte Paronychien aus, die gleichzeitig am rechten kleinen Finger und Daumen bestanden, an letzterer Stelle zugleich mit von der Wurzelgegend ausgehendem zackigen Substanzverlust des Nagels, der in den nächsten Tagen noch größer wurde. Die Paronychien erinnerten an syphilitische Erscheinungen; beide waren angeblich im Anschluß an Verletzungen entstanden. Sie bestanden seit etwa 20. Dez. 1906. Damals sah ich sie und behandelte mit Alkoholumschlägen; keine Eiterung. Auffallend war, daß zwar die akuten Entzündungserscheinungen (sehr mäßige Schmerzen), aber nicht die livid aussehende Infiltration der Nagelwurzelgegend in den folgenden 14 Tagen zurückging. Im übrigen fanden sich bei wiederholten sorgfältigsten Untersuchungen keinerlei syphilisverdächtige Erscheinungen am ganzen Körper; insbesondere war es auch nicht möglich, irgend eine Narbe festzustellen, die auf den Sitz eines früheren Primäraffektes hätte hindeuten können; auch bis zum 3. März war kein Geschwür festzustellen. — Bei einer zweiten Drüsenpunktion am 19. Jan. wurden wieder *Sp. pallidae* gefunden. Von dem Punktionssaft wurden gleich 2 Affen und 2 Kaninchen (letztere intracorneal) geimpft. Inzwischen waren keine weiteren syphilisverdächtigen Erscheinungen aufgetreten. — Kurz nach Einleitung einer Spritzkur (anfangs geringe Dosen) wurden am 28. Jan. blasse typische Roseolen und kleine Papeln am Oberkörper festgestellt; am 30. Jan. waren die Roseolen zahlreicher, größer und deutlicher, ebenso die Papeln am Oberkörper sowie auch an Armen und an Beinen und im Nacken. Gleichzeitig kleine Drüsen in der rechten Leiste bemerkt. Psoriasis palmaris rechts. Am 1. Febr. nochmalige Drüsenpunktion und Anfertigen von Präparaten von einer Papel nach Epithelabkratzung. Im Drüsensaft fanden sich noch Spirochäten (schlecht färbbar), mäßig zahlreich, und weiterhin weniger zahlreiche Spirochäten im Papelsaft, der leider zu viel Blut enthielt, wodurch die Untersuchung gestört wurde. Betont sei hier noch, daß ich die *Pallida* gleich in der ersten untersuchten Papel fand. [Mir ist es unerklärlich, mit welchem Recht Saling (27) bei einiger Kenntnis der Literatur im November 1906 behaupten konnte, daß „man in der Mehrzahl der luetischen Hautaffektionen . . . die *Sp. pallida* garnicht nachweisen konnte".] — Nach Beginn einer intensiven antiluetischen Kur verschwand das Exanthem schnell; auch die Drüsenschwellungen gingen zurück.

Von den am 19. Jan. mit dem Drüsensaft geimpften beiden Affen ging einer bald an anderer Krankheit zu Grunde; der andere zeigte Ende Februar an beiden Augen deutliche Lidrandinfiltrate, so daß der Impferfolg positiv war (Stabsarzt Roscher).

Am 20. Febr. begann bei beiden Kaninchen auf beiden Augen gleichzeitig und gleichmäßig an der Impfstelle (oberer Cornearand) eine Entzündung mit Pannusbildung. Vorher waren die Impfverletzungen völlig abgeheilt gewesen. In den nächsten 8 Tagen wurde auf allen 4 Augen gleichmäßig das Bild einer heftigen Keratitis parenchymatosa deutlich mit Trübung der ganzen oberen Corneahälften und auf 2 Augen mit Geschwürsbildung. Am 27. Febr. gelang es gleich bei der ersten derartigen Untersuchung, im Ausstrichpräparat von abgekratzter Hornhautsubstanz *Spirochaetae pallidae* bei Giemsa-Färbung (24 Std.) nachzuweisen.

Am 2. März machte ich ein Lebendpräparat von Epithelgeschabe der kranken Hornhaut des zweiten Kaninchens. Herr Prof. Frosch konnte mittels einer von ihm konstruierten einfachen Art der Dunkelfeldbeleuchtung in dem Präparat sofort sehr zahlreiche Spirochäten lebend erkennen. In demselben Präparat sah ich alsdann auch mit meinem Mikroskop (Okular 6) bei Auerlicht mit entsprechender Abblendung durch Senken des Abbeschen Beleuchtungsapparates viele Spirochäten.

Sie waren allerdings weniger deutlich zu erkennen wie die Spirochäten im Dunkelfeld. Die gesehenen Spirochäten entsprachen den Charakteristika der *Sp. pallida* in Windungen, Größe und Bewegung, die bei einzelnen deutlich zu erkennen war (vergl. hierzu p. 588). — Im Giemsa-Ausstrichpräparat von derselben Cornea waren ebenfalls sehr zahlreiche typische *Sp. pallidae* nachzuweisen, in vielen Gesichtsfeldern 5—10, mitunter noch mehr Exemplare. Kaum ein anderer Mikroorganismus war daneben im Präparat zu finden.

Die Untersuchung des vorstehend eingehend beschriebenen Falles hat nach manchen Richtungen hin interessante und wichtige Resultate ergeben. Kurz zusammengefaßt, ergibt sich folgendes: Bei einem a priori syphilisunverdächtigen jungen Mann wurde auf den *Pallida*-Befund im Punktionssaft einer aus unbekannter Ursache geschwollenen Leistendrüse hin die Diagnose Syphilis gestellt. Die Diagnose fand ihre Bestätigung durch den klinischen Verlauf sowie den positiven Ausfall der Impfung eines Affen und zweier Kaninchen mit dem Drüsensaft. Die Aetiologie des Falles konnte nicht aufgeklärt werden. Ohne weiteres zeigt dieser Befund den hohen diagnostischen Wert, den der Nachweis der *Sp. pallida* für latente Syphilis bei vorhandenen Drüsenschwellungen hat. Ohne die Drüsenpunktion und den Nachweis der *Sp. pallida* wäre die Syphilis sicher der Beachtung entgangen und hätte sich vielleicht erst nach Jahren in Form einer Tabes oder Paralyse bemerkbar gemacht.

Nach intracornealer Impfung mit dem ziemlich viele *Sp. pallidae* enthaltenden Drüsensaft entstand bei beiden Kaninchen gleichzeitig und gleichmäßig in der 5. Woche auf allen Augen eine Keratitis parenchymatosa. **Es gelang mir gleich, in nach Giemsa gefärbten Ausstrichpräparaten von den beiden untersuchten Kaninchenhornhäuten die *Sp. pallida* einwandsfrei nachzuweisen.** In einem auch frisch untersuchten Geschabepräparat einer Cornea gelang ferner Herrn Prof. Frosch und mir auch der Nachweis **sehr zahlreicher Spirochäten in lebendem Zustand.**

Mit diesen Befunden läßt sich die Nervenfasertheorie von W. Schulze und Saling nicht vereinbaren. Nervenfasern sind die von Herrn Prof. Frosch und mir nebeneinander lebend und aktiv beweglich sowie im Ausstrich gesehenen Gebilde aus der syphilitischen Kaninchencornea ganz sicher nicht, noch weniger elastische Fasern oder Zellgrenzen u. dergl. Sie sind vielmehr echte *Spirochaetae pallidae*, zu deren Nachweis in der mit Syphilismaterial geimpften Kaninchenhornhaut nach meinen Befunden die Levaditi-Schnittmethode wahrscheinlich ebenso entbehrt werden kann, wie zum Nachweis der *Sp. pallida* in Organen von kongenital syphylitischen Kindern, wie ich im folgenden zeigen werde.

(Schluß fogt.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die in Italien vorkommende Piroplasmose des Pferdes.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des K. Gesundheitsamtes in Rom, Direktor Prof. B. Gosio.]

Von Prof. Dr. **L. Baruchello** und Dr. **N. Mori.**

Geschichte. In vergangenen Zeiten sprach man, auf Grund des intermittierenden Fieberverlaufes oder des Nutzens, den der Gebrauch von Chininsalzen brachte, von Pferdemalaria, indem man eine Aehnlichkeit der Krankheit mit der Malaria des Menschen annahm. Von den Forschern, die vom klinischen Gesichtspunkte bedeutende Arbeiten über den Gegenstand veröffentlichten, führen wir hier an: Dupuy[1]), der an Pferden in Senegambien einige Untersuchungen ausführte; Popow[2]), der eine in einer see- und teichreichen, feuchten und ungesunden Gegend des Kaukasus vorherrschende, von ihm für Malaria gehaltene Krankheitsform beschrieb; Pierre[3]), der eine im französischen Sudan vorherrschende, die Symptome des Sumpffiebers darbietende Pferdekrankheit studierte.

Oft wurde die Aetiologie klinischer Formen von zweifelhafter Natur der Malaria zugeschrieben; da aber Parasiten nicht nachgewiesen wurden, so ist es unmöglich, zu erkennen, ob es sich immer um malariaähnliche Krankheiten gehandelt hat.

Nachher, als man die Hilfsmittel der Forschung vervollkommnet und beim Menschen und bei den Tieren die Natur der sogenannten Malaria festgestellt hatte, hielt man diese bezüglich des Pferdes allgemein für eine exotische Krankheit, besonders für eine Krankheit der Tropengegenden, obgleich beim Pferde die erste Beobachtung von endoglobulärem Parasitismus in Italien gemacht wurde.

Im Jahre 1899 beschrieb Dr. Guglielmi[4]), Tierarzt in der Provinz Lecce, einen vereinzelten Fall von Malaria bei einem Pferde, das blaß aussehende Schleimhäute, trockenes Maul, kleinen, häufigen Puls, eine Temperatur von 40°, beschleunigte Atembewegungen, Unlust zum Fressen, Unruhe und Zeichen von Bauchschmerzen aufwies. Da er einen intermittierenden Fieberverlauf beobachtete, kam ihm der Gedanke, es könne sich um Malaria handeln, und in der Tat nahm er bei Untersuchung des Blutes verschiedenförmige (kreisförmige, eiförmige, längliche, gekrümmte, stäbchenförmige, 1—2 μ große) Körperchen in den roten Blutkörperchen wahr.

Im Jahre 1901 belegte Laveran[5]) die von Bordet und Danysz in Südafrika, besonders in Transvaal studierten endoglobulären Protozoen des Pferdes mit dem Namen *Piroplasma equi*; er beschreibt sie wie folgt:

1) Dupuy, Malaria des chevaux algériens en Sénégambie. (Recueil de méd. vétér. 1888. p. 535; 1889. p. 253.)
2) Popow, Petersburg. Archiv. 1892. 6 casi di malaria nel cavallo. (La Clinica veterinaria. 1894. p. 182.)
3) Pierre, Du paludisme chez le cheval. (Bulletin de la Soc. centr. de méd. vétérin. 1896. p. 148.)
4) Guglielmi, Un caso di malaria nel cavallo. (La Clinica veterinaria. 1899. No. 19/20. p. 220 u. 229.)
5) Laveran, Contribution à l'étude du piroplasma equi. (Société de biologie. 1901. p. 385.)

„Sie erscheinen als runde, eiförmige oder seltener birnförmige, 0,5 bis 2,5 μ, häufiger 1 bis 1,5 μ im Durchmesser messende Körperchen und befinden sich fast immer im Innern der roten Blutkörperchen.“

„In den nach meiner Methode gefärbten Präparaten erkennt man ein Karyosoma, das sich blaurot färbt, während das Protoplasma in blauer Tinktion erscheint. In den größeren Elementen gewahrt man oft eine helle Zone, welche das Karyosoma umgibt.“

„Die Teilungsformen sind zahlreich in der Milz; sie teilen sich in zwei oder vier Parasiten. Die Zweiteilung ist sehr häufig: das Karyosoma wird länglich und zerfällt dann in zwei Teile; die zwei neugebildeten Karyosomen entfernen sich voneinander und das Protoplasma teilt sich ebenfalls. Die zwei so entstandenen Jugendformen können sich in vier kleine Parasiten teilen. Mitunter findet Teilung in vier Parasiten gleich statt.“

„Mögen die Körperchen sich in zwei oder direkt in vier Teile teilen, immer kommt es zur Bildung von vier Jugendformen, und sehr häufig trifft man rote Blutkörperchen an, die vier Parasiten enthalten, ja diese Anordnung zu vier macht eines der auffallendsten morphologischen Merkmale des *Piroplasma equi* aus.“

Laveran beobachtete, daß die Piroplasmose des Pferdes in keiner Beziehung zu der Malaria des Menschen steht, und daß die Horsesickness (Pferdepest) unabhängig von der Piroplasmose ist; die beiden Krankheiten können zugleich bestehen und bestehen in Transvaal häufig zugleich.

In Südafrika ist die Piroplasmose des Pferdes, die hier den Namen Gallenfieber hat, besonders von Theiler[1]) (1902—03) erforscht worden, der beobachtete, daß der endoglobuläre Parasit zu Anfang der Krankheit immer im Blute anwesend ist, aber im Verlaufe derselben, trotz deutlichen Auftretens der Symptome, fehlen kann, und daß das Tier, trotz vollständigen Verschwindens der Piroplasmen, stirbt. Nach Verabreichung von Chinin und Chlorammon findet rasches Verschwinden des Parasiten statt, aber andererseits wurde das Gleiche auch bei nicht behandelten Pferden beobachtet; in allen Fällen bleiben die klinischen Symptome nach Verschwinden des Parasiten bestehen. Theiler meint, daß das *Piroplasma equi* zu einer durch einen spezifischen Bacillus bedingten sekundären Infektion prädisponiere, welche auch nach vollständiger Heilung der Piroplasmose zu stande kommen kann.

Der von ihm beschriebene Bacillus hat Aehnlichkeit mit der *Pasteurella*, unterscheidet sich aber durch einige Eigenschaften von derselben; er ist offenbar pathogen für das Pferd, ruft aber Krankheitszustände hervor, die mit der ursprünglichen Krankheit keine Aehnlichkeit haben. Theiler traf ihn in 18 Fällen von nach Malaria aufgetretenen Komplikationen an, während er in 41 Fällen nicht vorhanden war (30,5 Proz.).

In einer neueren Arbeit berichtet Theiler[2]), daß die Piroplasmose des Pferdes vor dem Kriege in Transvaal selten auftrat und zumeist bei vom Auslande eingeführten Tieren beobachtet wurde.

Während des Krieges und nach dem Kriege wurde sie hier, infolge des enormen Zuwachses ausländischer Pferde, die alle für sie empfänglich waren, ganz gewöhnlich. Die in Südafrika geborenen und gezüch-

1) Theiler, Equine malaria and its sequelae. (Journal of comp. path. and therapeutics. Vol. XV. 1902. p. 40—54.)

2) Theiler, Journal of comparative pathol. and therapeutics. Vol. XVI. 1903. p. 97 u. 516.

teten Pferde, oder wenigstens die Pferde, die in Territorien gezüchtet werden, wo Zecken vorhanden sind, besitzen eine erworbene und dauernde Immunität, wie es die der Rinder gegen die Hämoglobinurie ist.

Dale[1]) beobachtete 1903 in Transvaal eine enzootisch auftretende Krankheit der Esel, die durch die von Theiler ausgeführte Untersuchung des Blutes als Piroplasmose erkannt wurde. Tiere jeder Rasse, auch eingeborene, wurden von ihr befallen; doch erwiesen sich letztere als widerstandsfähiger, da keines von ihnen zu Grunde ging. Die Beziehungen zwischen Malaria des Pferdes und Malaria des Esels konnte er nicht bestimmen; 12 Pferde, die er mit 1000 infizierten Eseln zusammen weiden ließ, blieben immun. Theiler meint jedoch, daß die Piroplasmosen des Pferdes, des Esels und des Maulesels, obgleich sie klinisch etwas voneinander abweichen (denn beim Esel fehlt die Gelbfärbung und tritt namentlich, je nachdem die Krankheit einen raschen oder chronischen Verlauf hat, akute oder progressive Anämie auf), doch von dem gleichen Parasiten erzeugt werden.

Die Piroplasmose des Pferdes in Madagaskar wurde 1903 von Thiroux[2]) studiert. Im Blute von Pferden, die mit einer Krankheit behaftet waren, deren Hauptsymptome in kachektischem Zustande, Paraplegie und Osteoporose mit Spontanfrakturen bestehen, traf er kleine, runde, teils freiliegende, teils in den Blutzellen eingeschlossene Körperchen an, die bezüglich ihrer parasitären Natur keinen Zweifel ließen und von Laveran als Piroplasmen erkannt wurden. Thiroux hat in Madagaskar auch die von Theiler beschriebene akute Piroplasmose beobachtet, meint aber, daß außer den akuten Formen chronische Fälle vorkommen, die mit Kachexie und Paraplegie endigen; die Osteoporose werde wahrscheinlich nicht durch dieselbe Ursache hervorgerufen.

Im Jahre 1904 beobachtete Koch[3]) die besagte Infektion in Rhodesia. Bei Uebertragungsversuchen durch Impfung von Pferd zu Pferd erhielt er nur in ganz besonderen Fällen positive Resultate. Bowill[4]) beobachtete sie im Kapland und war der erste, der vier verschieden (rund, birn-, stäbchen-, rosettenförmig) gestaltete Individuen aus der Teilung eines einzigen Parasiten hervorgehen sah und freiliegende oder in Blutzellen eingeschlossene, mit einer Geißel versehene birnförmige Körperchen bemerkte. Eine Uebertragung der Krankheit durch Verimpfung von Blut gelang ihm nicht; er meint, daß das einmalige Ueberstehen der Krankheit Immunität verleihe.

Auch Edington[5]) hat (1901—1905) die Piroplasmose des Pferdes eingehend studiert. Es gelang ihm, die Infektion auch auf eingeborene Tiere zu übertragen; als weniger empfänglich erwiesen sich die von der Küste herkommenden Tiere. Ein gesundes Pferd vermochte, nachdem es eine Nacht im „Veldt“ zugebracht hatte, mittels seines Blutes die Krankheit auf zwei gesunde Pferde zu übertragen. Edington, der

1) Dale, Journal of comparative pathol. and therapeutics. 1903. p. 312.

2) Thiroux, Note sur l'existence de la piroplasmose du cheval à Madagascar. (Compt. rend. de la Société de biologie, séance du 24 Octobre 1903. p. 1188.)

3) Koch, Rhodesian investigations. (Cape agricultural Journal. Vol. XXIV. No. 6. June 1904.)

4) Bowill, Departmental report to chief colonial veterinary surgeon on equine malaria. 13 Jan. 1904. — Equine piroplasmosis or biliary fever. (Journal of hyg. Vol. IV. 10. Jan. 1905.)

5) Edington, Col. Bact. Institute. Report 1901. — Further remarks on the production of malarial form of horse-sickness. (Journal of hygiene. Vol. IV. No. 1. p. 11.) — Biliary fever in the horse. (Journal of comp. path. and ther. Vol. XVII. March 1905. p. 35—40.)

beobachtete, daß die Einimpfung von einem infizierten Tiere entnommenem Blute gewöhnlich die Immunität verleiht, empfiehlt dieses Verfahren als Schutzmaßregel.

Eassie[1]) unterscheidet auf Grund von Beobachtungen, die er bei einigen aus Südafrika importierten Mauleseln gemacht hat, welche Tiere dort nach ganz kurzer Zeit vom Fieber befallen worden waren, einen primären Anfall und ein Rückfallfieber, welches der die Surrakrankheit begleitenden progressiven Anämie ähnlich ist. Er meint, sich lediglich auf klinische Daten stützend, daß das *Piroplasma equi* auch in Birma, an der chinesischen Grenze und in Australien vorkomme.

Ziemann[2]) hatte (1904) Gelegenheit, das *Piroplasma equi* in Venezuela und in Kamerun zu beobachten; Lingard und Jennings[3]) trafen es (1904) in Indien an. Diese letzteren Forscher hatten im Laboratorium in Bareilly (in den Vorbergen des Himalaya) Gelegenheit, durch Piroplasmen erzeugte Infektionen nicht nur bei Rindern und Pferden, sondern auch bei Elefanten, Kamelen, Ziegen, Schafen, englischen und eingeborenen Hunden, bei Katzen, Affen, Hirschen, englischen Geflügelrassen und bei Eidechsen zu beobachten.

Piot-Bey[4]) berichtet, daß in Aegyten eine Krankheit vorkommt, die in ihrer klinischen Form, ihrem Verlauf und ihren Läsionen die größte Aehnlichkeit mit der von Theiler in Südafrika und von Dupuy und Pierre im französischen Sudan angetroffenen Piroplasmose hat. Die Krankheit tritt in zwei Formen auf: einer akuten, sehr schweren, die mit Kräfteverfall, starkem Fieber beginnt, sich dann durch gelbe Färbung der Schleimhäute, rote Flecken auf den Gelenken, Hämoglobinurie äußert und nach 4—5 Tagen den Tod hervorruft; und einer leichten, häufigeren, die 2—3 Wochen dauert und nach verschiedenen Manifestationen gewöhnlich in Heilung übergeht. Die eingeborenen Pferde besitzen eine gewisse Widerstandsfähigkeit, wohingegen die europäischen Pferde fast alle von der Krankheit befallen werden. Das einmalige Ueberstehen der Krankheit verleiht Immunität. Der mikroskopische Befund ist nicht angegeben.

In Europa haben nach der ersten, 1899 von Guglielmi gemachten, oben schon erwähnten Beobachtung die Forschungen über das Bestehen oder Nichtbestehen von Pferdemalariaherden nur wenige Fortschritte gemacht.

Im Jahre 1903 berichtete Guglielmi[5]) über einen zweiten Fall, bei welchem ein Pferd starke Abmagerung und Kraftlosigkeit in den Bewegungen aufwies; die Bindehaut war blaß, mit Tränenfluß aus dem rechten Auge; die Mundschleimhaut blaß, gelblich gefärbt; kleiner schwacher Puls, Atmungszahl 10, Temperatur 38°; Freßlust verringert, Penis etwas hängend, apathischer Zustand; ohne Hilfe konnte das Pferd sich nicht aufrichten. Guglielmi gibt an, daß er die gleichen Parasiten fand wie beim ersten Fall, und außerdem auch einige birnförmige, seltener kreuzförmige Gebilde antraf.

1) Eassie, Some observations on tropical biliary fever. (Journal of comp. path. and ther. Vol. XVIII. June 1905. p. 108—113.)

2) Ziemann, Zur Bevölkerungs- und Viehfrage in Kamerun. (Deutsches Kolonialblatt. 1904. No. 14.)

3) Lingard and Jennings, A preliminary note on pyroplasmosis found in man and in some of the lower animals. (Ind. med. Gaz. 1904. May. p. 161—165.)

4) Piot-Bey, VIII. Congrès internat. de médecine vétérinaire, tenu à Budapest du 3 au 9 Septbre. 1905. Revue génér. de méd. vétér. Vol. VI. 1905. p. 424.

5) Guglielmi, Un altro caso di malaria del cavallo ed ipotesi sul mezzo di trasmissione. (La Clinica veterinaria. 1903. Decembre e 1904. Gennaio.)

In Deutschland bemerkte Ziemann[1]) (1902) bei Untersuchung des Blutes von einem an schwachen Kreuzschmerzen und Hämatinurie leidenden Pferde in den roten Blutkörperchen kleine, sehr bewegliche Parasiten, die sich von den Jugendformen der Hämoglobinurie des Rindes nicht unterscheiden ließen. Da ein gesundes Pferd, das er mit dem Blute jenes Pferdes impfte, nicht erkrankte, blieb er im Zweifel, ob es sich um eine durch Protozoen erzeugte Infektion handle.

Die Tatsache, daß mehrere andere Forscher bei Uebertragungsversuchen des *Piroplasma equi* durch infiziertes Blut negative Resultate erhielten, macht die Ziemannsche Beobachtung wertvoller und läßt annehmen, daß es sich wahrscheinlich auch in seinem Falle um Piroplasmose gehandelt habe.

* * *

Wir wollen nun ausführlich den Krankheitsprozeß beschreiben, wie er sich uns bei den Beobachtungen erwies, die wir bei den in Rom und Umgegend und in anderen Provinzen Italiens aufgetretenen Epizootien gemacht haben.

Symptome. Das klinische Krankheitsbild ist folgendes:

Adynamie. Es besteht allgemeine Kraftlosigkeit, Prostration, mehr oder weniger bedeutende Stumpfheit der Sinne.

Fieber. Es beginnt am häufigsten ganz plötzlich, mitunter mit Schüttelfrost, und die Temperatur steigt schon am ersten Tage auf 39,5 ° bis 41 ° und darüber, nachher kann sie noch bis auf 42 °—42,5 ° steigen, mit gewöhnlich abends stattfindenden Remissionen und Exacerbationen; der Fiebernachlaß erfolgt mittelst einer Reihe absteigender Schwankungen. Der Fieberverlauf ist kein regelmäßiger; in einigen Fällen haben wir jedoch Andeutungen von Intermittenz nach dem Typus des Tertianfiebers und rasche Rückkehr auf die initiale Maximaltemperatur am 8. oder 9. Tage beobachtet.

Puls. Häufiger, unregelmäßiger, bisweilen kleiner, kaum wahrnehmbarer Puls. Herzschläge in manchen Fällen heftig und tumultuarisch.

Atmung. Sie ist in schweren Fällen beschleunigt, keuchend, obgleich die Perkussion und Auskultation des Thorax auf keine erheblichen Läsionen der Pleura und der Lungen schließen läßt.

Zustand der Schleimhäute. Die Schleimhäute zeigen eine intensiv gelbe, in leichten Fällen eine weniger ausgesprochene gelbe Färbung, die schon bei Beginn der Krankheit wahrgenommen wird; häufig sind sie mit hirsekorn- bis linsen- oder bohnengroßen dunkelroten Petechien besät, die mitunter zu größeren Hämorrhagieflecken konfluieren. In schweren Fällen sind die Augenlider fast ganz geschlossen, die Bindehaut ist gelblich verfärbt, ödematös, mit Petechien besät und gibt ein bisweilen gelblich oder rötlich gefärbtes Sekret ab. Die Schleimhäute bewahren ihre gelbliche Färbung noch eine Zeitlang, wenn die übrigen Symptome zurückgetreten sind.

Verdauungsfunktion. Die Tiere fressen keinen Hafer mehr und nehmen nur noch etwas Grünfutter auf. Sehr oft tritt vollständige Anorexie ein. — Bei schweren Formen besteht Diarrhöe, welche der Krankheit einen raschen Verlauf gibt, oder intermittierende Kolik, die ebenfalls ein ungünstiges Symptom ist.

Harn. In manchen Fällen tritt frühzeitige Hämoglobinurie auf; oft wird die Hämoglobinurie in dem dem Tode vorangehenden Stadium beobachtet.

1) Ziemann, Deutsche med. Wochenschrift. 1902. p. 385.

Komplikationen. Im Verlaufe der Krankheit können Kongestionen in den Lungen und Lobulärpneumonie auftreten.

Bei Formen mit längerem Verlauf konstatiert man Veränderungen in den Herzfunktionen: Venenpuls, Arhythmie des Herzens, mitunter systolisches Blasen, Oedem an den Gliedern und Erscheinungen von Anasarka. In einigen Fällen beobachteten wir während der Konvaleszenz Podophlegmatitis.

Dauer. Der Tod kann in 2 oder 3 Tagen eintreten, die Krankheit kann aber auch wochenlang dauern; die mittlere Krankheitsdauer ist 7—10 Tage.

Ausgang. Die Mortalität ist bei den einzelnen Epizootien wegen mannigfaltiger Umstände eine verschiedene. Manchmal tritt die Epizootie in sehr schweren Formen auf und die Mortalität ist dann eine große, besonders bei Pferden besserer Rassen; andere Male gehen verbreitete Epizootien fast ohne Verluste vorüber. Es kann geschehen, daß beim ersten Auftreten der Epizootie während der ersten Sommerhitze viele Pferde zu Grunde gehen, daß aber nachher tödlich endende Fälle immer seltener werden und die gutartigen Formen vorherrschen. Von 90 erkrankten Pferden, die im Juni—Juli 1904 in das Garnison-Pferdelazarett in Rom aufgenommen wurden, starben nur 5. Im allgemeinen kann man die Mortalitätsziffer auf 6—12 Proz. berechnen.

Therapie. In mehreren Fällen erhielten wir gute Resultate durch subkutane oder endovenöse Injektionen von Chininsalzen.

Prädisposition und Immunität. Unzweifelhaft sind die importierten Pferde zur Krankheit sehr prädisponiert und den schweren Formen mehr unterworfen. Die in der römischen Campagna geborenen oder gezüchteten Pferde sind gewöhnlich immun; importierte Pferde aber ziehen sich, wenn sie auf die Weide getrieben werden (wie dies manche Wagenvermieter in der stillen Sommerzeit mit ihren Pferden zu tun pflegen), sehr leicht die Krankheit zu. Es scheint, daß das einmalige Ueberstehen der Krankheit Immunität verleihe.

Die Krankheit offenbart sich nicht mit Merkmalen von Kontagiosität.

Pathologisch-anatomischer Befund. Was bei der Autopsie am meisten auffällt, ist der durch eine gelbliche Färbung verdeckte anämische Zustand aller Gewebe; diese Gelbfärbung ist im Bindegewebe und auf den serösen Häuten am ausgeprägtesten.

Die Milz ist vergrößert, die Kapsel straff gespannt, das Parenchym zerreißt leicht und ist mit einer großen Menge schwarzbraunen Blutes infiltriert, das bei leichtem Druck austritt. Die Vergrößerung des Organs steht mit der Dauer der Krankheit in Beziehung. Bei der mikroskopischen Untersuchung von Milzschnitten konstatiert man den hämorrhagischen Zerfall des Organs, der sich durch große von roten Blutkörperchen invadierte Hohlräume und die Infiltration des Gewebes mit Blut kundgibt.

Die Leber, die gewöhnlich an Volumen zugenommen hat, ist reich an Galle und mit Blut infiltriert, das sich an der braunrot gefärbten Schnittfläche ansammelt; die Konsistenz hat sich vermindert.

Bei der mikroskopischen Untersuchung von Leberschnitten gewahrt man in Zonen abgegrenzte Degenerationsveränderungen (Atrophie, vakuoläre Degeneration der Leberzellen), nekrotische Punkte. Man sieht Zellen mit trübem, körnigem Protoplasma, die oft gelbe, braungelbe, ockerfarbene Pigmentkörnchen enthalten.

Der Darm zeigt Gelbfärbung und kleine zerstreute Hämorrhagieherde.

Die Nieren sind in manchen Fällen vergrößert, hyperämisch, ikterisch, mit umschriebenen hämorrhagischen Infiltrationen, die besonders in der Schleimhaut des Nierenbeckens und der Nierenkelche angetroffen werden; die Nierenpyramiden und die medullären Strahlen sind schwärzlich gefärbt.

Die Lungen sind oft gänzlich durchgängig; mitunter bestehen Kongestionen und hämorrhagische Infarkte, Herde von hypostatischer Pneumonie oder Bronchopneumonie, gangränöse Punkte.

Das Herz. Myocard anämisch, schlaff; Hämorrhagieflecken am Endocard und Pericard. Das Herz enthält mitunter eine geringe Menge aufgelösten Blutes oder weiche Gerinnsel und aufgelöstes Blut.

Das Blut, das durch Aderlaß entnommen wird, gerinnt schnell; aber das Gerinnsel hat geringe Konsistenz und das Serum hat einen braungelben Farbenton.

Die Lymphdrüsen der Körperhöhlen sind angeschwollen; die Muskeln sind mit einer gelblichen serösen Flüssigkeit infiltriert.

* * *

Untersuchung des Blutes. Der geeignetste Zeitabschnitt zum Studium der Parasiten ist der des Krankheitsbeginnes; wir haben die Parasiten auch am 3. und 4. Tage in reichlicher Menge angetroffen, aber später lassen sie sich nur schwer auffinden.

Die Zahl der Parasiten enthaltenden roten Blutkörperchen variiert also je nach dem Moment, in welchem man das Blut untersucht und je nach der Schwere der Krankheit. Manchmal gewahrt man in vielen Präparaten nicht mehr als 1—2 Parasiten; andere Male erscheinen 50 bis 60 Proz. der roten Blutkörperchen infiziert. Die betreffenden Blutkörperchen sind von den gesunden nicht sehr verschieden; höchstens kann man von einem geringeren Hämoglobingehalt sprechen, nur selten sind sie vergrößert.

Die Parasiten können auch im Plasma, außerhalb der roten Blutkörperchen angetroffen werden. Die endoglobulären Parasiten lassen sich in den aus frischem Blut hergestellten Präparaten erkennen; aber deutlicher treten sie bei Anwendung spezifischer Färbungsmethoden hervor. Sehr schöne und dauernde Färbungen erhielten wir mittels der Giemsaschen Farblösung, wenn wir sie bei Brutschranktemperatur 20—24 Stunden lang auf die Deckglaspräparate einwirken ließen; ebenso nach der Marinaschen Methode.

Bei Anwendung dieser Methoden färbt sich das Cytoplasma hellblau, das Chromatin blau-rot.

Die in Rede stehenden Parasiten variieren in der Form, in der Größe und in ihrer Anordnung zueinander, wenn sie sich zu mehreren in einem und demselben roten Blutkörperchen finden.

In morphologischer Hinsicht erscheint es uns angemessen, sie in vier Hauptgruppen zu teilen:

a) rundliche Formen,
b) längliche Formen,
c) in Teilung begriffene Formen,
d) mit Geißeln versehene Formen.

a) Rundliche Formen. Zu dieser Gruppe zählen wir die fast runden oder eirunden Parasiten; Formen mit wellenförmigem Kontur sind weniger häufig.

Das Protoplasma ist mehr oder weniger reichlich; bisweilen erscheint es homogen, manchmal erblickt man eine Art Netzwerk, das bei einigen Formen ein regelrechtes und elegantes Aussehen annimmt. Man trifft

Formen an, deren protoplasmatischer Teil nach dem Zentrum zu farblos ist; dann hat man nur einen gefärbten Hof, der manchmal so fein ist, daß man ihn kaum sieht. In diesem Falle nehmen die Parasiten das Aussehen eines Ringes mit eingefaßtem Stein an, welch letzterer durch den Chromatinkern dargestellt wird; groß ist hier die Aehnlichkeit mit den Ringformen der Sommer-Herbstfieber des Menschen.

Sowohl bei diesen als bei den anderen Formen findet sich das Chromatin in verschiedener Menge und verschiedenartig verteilt. Es ist fast immer exzentrisch an der Peripherie des Parasiten angeordnet und bildet in gewissen Fällen eine Art von knopfförmigem Anhang.

Es kommen Protozoen mit einem einzigen, mit drei oder mit mehr verschieden großen Chromatinklümpchen vor, oder das Chromatin kann sichel-, halbmond- oder ringförmig diffundiert sein und in manchen Fällen Aufschwellungen am Kontur des Parasiten aufweisen. Ferner beobachtet man Formen, besonders kleine, vereinzelte, die vielleicht die Lignièresschen Keimkörperchen der Piroplasmose des Rindes darstellen, bei denen der Protoplasmahof kaum zu erkennen ist.

Die rundlichen Parasiten sind von verschiedener Größe, doch trifft man keine an, die größer wären als $^1/_8$ des roten Blutkörperchens; die kleinsten sind kaum 1 μ groß. Im allgemeinen enthalten die infizierten roten Blutkörperchen je einen Parasiten; doch trifft man nicht selten solche an, die 2, 3 oder auch 4 Parasiten enthalten; ein einziges Mal haben wir ein rotes Blutkörperchen beobachtet, das 6 kleine, deutlich erkennbare Parasiten enthielt.

Trifft man nun auch leicht große Formen in Blutkörperchen an, die 1, 2 oder 3 Parasiten beherbergen, so geschieht dies doch nie in solchen, die mehr als 3 Parasiten enthalten, in welchem Falle diese stets klein oder mittelgroß sind.

Die Anordnung der Piroplasmen zueinander, wenn sie sich zu mehreren in einem roten Blutkörperchen finden, ist eine verschiedene; charakteristisch ist die dreiblattähnliche Anordnung, welche die Parasiten darbieten, wenn sie sich zu 3 befinden; ebenso die rosettenartige Anordnung, die Anordnung nach Art des St. Andreaskreuzes oder des Malteserkreuzes, wenn sie zu 4 in einem roten Blutkörperchen vereinigt sind. Manche roten Blutkörperchen weisen Parasiten auf, die die ursprüngliche Art der Anordnung aufzugeben scheinen, um sich gegen die Peripherie hin aufzureihen.

b) Längliche Formen. Es sind mehr oder weniger regelmäßige Formen, die gewöhnlich das Aussehen von birn-, keulen-, rauten-, halbmond- oder stäbchenförmigen Gebilden haben.

Das Protoplasma und das Chromatin zeigen bei diesen Formen fast die gleiche Anordnung wie bei den rundlichen.

Diese Formen sind fast immer von großem oder mittelgroßem Umfang und haben mitunter den gleichen Durchmesser wie das rote Blutkörperchen. Die birn- und keulenförmigen Parasiten treten zumeist vereinzelt auf; wenn sie zu zweien vereinigt sind, liegt der dünnere Teil des einen Parasiten auf der entgegengesetzten Seite von dem des anderen.

In einem roten Blutkörperchen trafen wir 4 kleine birnförmige Parasiten an; der dünnere Teil war gegen die Peripherie des roten Blutkörperchens gerichtet, das Chromatin fand sich, zusammengehäuft, im angeschwollenen Teil der Parasiten. Dieser Befund scheint uns erwähnenswert, denn soweit uns bekannt, haben Andere dergleichen nicht beobachtet.

Die übrigen länglichen Formen treten fast immer vereinzelt auf.

c) In Teilung begriffene Formen. Es sind Parasitenformen, die wir in dem Augenblick, wo sie sich teilten, zu Gesicht bekamen. Die Schizogonie kann durch Teilung eines Parasiten in 2, 3 oder 4 erfolgen. So bemerkt man 8-förmige Bildungen, bei denen das Chromatin in 2 Kerne geteilt ist, die sich immer mehr vom eingeschnürten Teil entfernen, um an der Peripherie des angeschwollenen Teiles Platz zu nehmen.

Ferner sieht man dreiblattähnliche Formen mit 3 Chromatinkernen. Sie kommen unter den Teilungsformen ziemlich häufig vor, doch läßt sich ihre Entstehung schwer erklären. Wahrscheinlich handelt es sich um eine partielle Atrophie.

Endlich bemerkt man leicht rosettenförmige Bildungen, sowie Gebilde von der Form des St. Andreaskreuzes und Malteserkreuzes, die wohl nichts anderes sind als Parasiten, die gerade im Begriffe stehen, sich in vier zu teilen.

In allen diesen Formen ist das Chromatin bisweilen in so großer Menge, daß es das Cytoplasma verlarvt.

Um die rosettenförmigen Bildungen herum gewahrt man nicht selten einen farblosen Hof.

d) Mit Geißeln versehene Formen. Es sind die oben beschriebenen rundlichen oder länglichen Formen, nur daß sie mit einem oder mehreren Geißelfäden versehen sind. Weder in den Merkmalen des Protoplasmas und des Chromatins, noch in der Größe differieren sie von jenen. Sie kommen häufig vereinzelt vor, doch können sie auch mit einer anderen gegeißelten oder nicht gegeißelten Form vereinigt sein.

Die Geißeln sind mehr oder weniger fein und einige haben eine terminale Anschwellung; ihre Länge variiert von der einer kleinen Spitze bis zur 2—3-fachen Länge des Parasiten. Häufig weisen sie auf ihrem Verlaufe ein oder mehrere Chromatinklümpchen auf; manchmal läßt sich das Chromatin nicht deutlich erkennen. Vorderhand messen wir diesen gegeißelten Formen vor allem eine morphologische Bedeutung bei.

Wir trafen Parasiten mit einer einzigen Geißel, seltener mit 2 und nur in einem Falle mit 3 Geißeln an. Die Geißeln können geradlinig, gekrümmt oder wellenförmig sein; oft erstrecken sie sich bis zur Peripherie des roten Blutkörperchens und manchmal gehen sie über dieselbe hinaus, wie wir dies in 2 Fällen beobachteten.

Außerhalb der roten Blutkörperchen haben wir nur wenige gegeißelte Formen wahrgenommen.

Mischformen. In einem und demselben roten Blutkörperchen können zwei oder mehr verschiedenförmige Parasiten sich finden: z. B. ein rundlicher und ein länglicher, ein ungegeißelter und ein gegeißelter u. s. w.

Was die Frequenz der verschiedenen Formen in den aus infiziertem Blute hergestellten Präparate anbetrifft, bemerken wir, daß im allgemeinen die rundlichen Formen vorherrschen, die zumeist von großem Umfange sind und vereinzelt auftreten; aber auch längliche und mit Geißeln versehene Formen werden häufig beobachtet. Wollte man die verschiedenen Parasitenformen nach der Häufigkeit ihres Vorkommens ordnen, so hätte man diese absteigende Reihenfolge: rundliche Formen, längliche Formen, gegeißelte Formen, in Teilung begriffene Formen.

* * *

Diagnose. Zu diagnostischen Zwecken ist vor allem das Aufsuchen der Parasiten im Blute vorzunehmen, und zwar muß dies bei Beginn der Krankheit geschehen.

Das am meisten in die Augen springende klinische Merkmal ist die Gelbfärbung der sichtbaren Schleimhäute, die frühzeitig auftritt, bei Tieren mit starkem Fieber und in schwerem Allgemeinzustand, mit fast konstanter Bildung von braun-roten, eigentümlich aussehenden Petechien auf der Conjunctiva. Weitere Differentialmerkmale sind: die geringere Häufigkeit von Lungenaffektionen und mitunter der Hämoglobingehalt des Harns.

Wenn bei einer namentlich in den Sommermonaten epizootisch auftretenden Krankheitsform, außer dem klinischen Bilde einer schweren Infektion (Fieber, Adynamie u. s. w.), Ikterus, Petechien und — was jedoch selten der Fall ist — Hämoglobinurie, oder eine gewisse Konkomitanz dieser Symptome, besonders Ikterus, angetroffen werden, kann man die Wahrscheinlichkeitsdiagnose auf Piroplasmose stellen, welche Diagnose dann durch die mikroskopische Untersuchung des Blutes ihre Bestätigung finden müßte.

Impfversuche an Tieren. Aus der Jugularvene erkrankter Pferde aspirierten wir mittels einer großen Spritze 10 ccm an Parasiten reichen Blutes und injizierten dieses in die Jugularvene anderer Pferde, die, soweit wir wußten, vorher nicht an dieser Krankheit gelitten hatten. Die Krankheit reproduzierte sich nicht und die Tiere erfuhren keinerlei Störung. Dies stimmt übrigens mit den Beobachtungen der meisten Forscher, die sich mit dem Studium der Piroplasmose des Pferdes beschäftigten, überein.

Die negativen Resultate unserer Impfversuche könnten, wie wir anannehmen, dadurch bedingt sein, daß wir zu den Experimenten zwei aus Süditalien stammende und ein beim Artillerieregiment in Rom geborenes Füllen verwendeten, also Tiere, die möglicherweise Immunität besaßen. Wir gedenken die Versuche an Pferden zu wiederholen, die aus Orten stammen, wo die Krankheit nicht vorkommt.

Wie erfolgt die natürliche Infektion? Bis jetzt lassen sich nur Hypothesen aufstellen. Guglielmi neigt zu der Annahme, daß die Infektion durch die Vermittelung einer den Menschen ungern anfallenden *Anopheles*-Art oder eines *Culicida* erfolge; aber im allgemeinen nehmen die Forscher an, daß es sich, wie bei der Rindermalaria, um Zecken handle.

Bowill und Eassie sprechen sich dahin aus, daß in Südafrika die Uebertragung der Piroplasmen auf Pferde aller Wahrscheinlichkeit nach durch den *Rhipicephalus decoloratus* vermittelt werde, der häufig auf den infizierten Tieren angetroffen wird. Theiler behauptet, daß nach einigen seiner Untersuchungen die Piroplasmose des Pferdes durch den *Rhipicephalus Evertsi* übertragen wird, der als Puppe den Infektionskeim aufnimmt und nach seiner vollständigen Entwickelung ihn überträgt[1]).

In Anbetracht der Tatsache, daß in Rom Pferde an der Piroplasmose erkranken, die sorgfältigst in Ställen, fern von den Reproduktionsstätten der Zecken gehalten werden, und auf denen wegen der ihnen zu teil werdenden beständigen Abwartung die Zecken schwerlich fortkommen könnten, vermuten wir, daß die Infektion vielleicht durch die *Hippobosca equina* (Pferdebremse) erfolge, die während der heißen Sommermonate, in denen gerade die Krankheit aufzutreten pflegt, so häufig ist. Aber vorderhand können wir zur Stütze dieser Hypothese keine beweiskräftige Beobachtung beibringen. Andererseits beobachteten wir oft, daß in Ställen die Krankheit auftritt, wenn die Pferde mit frischem Heu oder

1) Theiler, Journ. of comp. path. and ther. 1906. Dec.

Gras gefüttert werden. Es ist also nicht unwahrscheinlich, daß mit dem genannten Futter Zeckenlarven und -puppen und junge Zecken von infizierten Wiesen in die Ställe verschleppt werden.

Erwägungen.

Mit welcher der in Europa bekannten Krankheiten ist die Piroplasmose des Pferdes in Beziehung zu bringen? Ist sie als eine auf umgrenzte Herde beschränkte Krankheitsform anzusehen, die bisher in unseren Gegenden nicht bekannt war, weil sie wegen einer gewissen Aehnlichkeit in den Symptomen mit anderen Krankheitsformen verwechselt wurde, oder ist sie, wie wir es angenommen haben, nichts anderes als eine klinisch wohlbekannte und nur in ihrer Aetiologie nicht aufgehellte Krankheit anzusehen?

Die klinischen Symptome der Piroplasmose des Pferdes sind denen sehr ähnlich, die bei der maladie typhoide, beim fièvre typhoide, der Pasteurellose der Franzosen, bei der Pferdestaupe, Influenza des Pferdes, Rotlaufseuche der Deutschen, beim Typhus, bei der typhoide disease der Engländer, beim tifo, febbre tifoide, Influenza der Italiener angetroffen werden, und ohne Hilfe des Mikroskops läßt sie sich sehr schwer von diesen Krankheitsformen unterscheiden.

Doch läßt sich behaupten, daß in den Symptomen und den pathologisch-anatomischen Läsionen die Piroplasmose des Pferdes genau der von D'Arboval und Cadéac unter dem Namen fièvre typhoide beschriebenen Krankheit entspricht, bei welcher klinischen Krankheitsform wir konstant und ausschließlich Piroplasmen antrafen.

Unzweifelhaft haben unsere Untersuchungen Licht in jene Gruppe von in ihrer Aetiologie noch nicht erklärten Pferdekrankheiten gebracht, die man mit dem generischen Namen typhoide Affektionen bezeichnete, und mit denen die Piroplasmose des Pferdes verwechselt wurde.

Die Kenntnis jedoch, daß die von uns studierte Krankheit durch Protozoen verursacht wird, ist von großer praktischer Bedeutung, sowohl mit Bezug auf die therapeutische Behandlung als hinsichtlich der Prophylaxis, welche besonders die Ankämpfung gegen die Zwischenträger und Vehikel der Infektion ins Auge fassen wird. Sehr förderlich wäre es, wenn wir feststellen könnten, welche von den verschiedenen, von den Forschern angeklagten Insektenarten die Zwischenträgerrolle spielt, und wir beabsichtigen, den Gegenstand betreffende Untersuchungen anzustellen.

Was die Prophylaxis anbetrifft, wird man auch mit Präventivverfahren, welche die Widerstandsfähigkeit der für die Krankheit empfänglichen Tiere zu erhöhen vermögen, Versuche machen müssen.

Die Frage, ob die Piroplasmose des Pferdes ihre Herrschaft nur auf bestimmte Herde beschränkt, oder ob sie, wie wir fest glauben, eine ausgedehnte Herrschaft in Europa hat, werden weitere mikroskopische Untersuchungen wohl bald lösen [1]).

---

1) Die in unserem Laboratorium vorgenommenen mikroskopischen Untersuchungen des Blutes von in verschiedenen Gegenden Italiens an typhösem Fieber erkrankten Pferden haben dargetan, daß die Piroplasmose des Pferdes nicht nur in der römischen Campagna, sondern auch in Campanien, in den Abruzzen, in Venetien, Apulien und in der Provinz Emilia besteht. — Baruchello e Pricolo, Sull'area geografica della piroplasmosi equina in Italia. (Clinica veterinaria. 1906. No. 42.) — Pricolo, Ulteriore contributo allo studio d. piroplasmosi equina. (Clinica veterinaria. 1906.) — Baruchello, I sintomi clinici fondamentali della malaria del cavallo. (Clinica veterinaria. 1906.)

Schlüsse.

1) Die in den Sommermonaten in Rom und der römischen Campagna und in vielen anderen Gegenden Italiens auftretende Pferdekrankheit, bisher allgemein Typhus, typhöses Fieber, Influenza u. s. w. benannt, ist nicht bakterischer Natur, sondern wird durch endoglobuläre Protozoen hervorgerufen.

2) Die Piroplasmose des Pferdes entspricht in den klinischen Symptomen genau dem typhösen Fieber, wie dieses von d'Arboval und Cadéac beschrieben worden ist.

3) Wir können nicht bestätigen, daß der bei besagter Krankheit von uns angetroffene Parasit mit dem Laveranschen *Piroplasma equi*, welches in Südafrika und in anderen Tropengegenden die Pferdemalaria hervorruft, identisch ist, wenn er auch dessen Hauptmerkmale aufweist und wir auch noch einige Parasitenformen zu Gesicht bekamen, die von anderen Forschern selten oder nie beobachtet wurden.

Herrn Prof. B. Gosio, Direktor des Laboratoriums, sagen wir für den bei unseren Untersuchungen uns geleisteten Beistand aufrichtigen Dank.

Ueber einige zum Teil neue Distomen der europäischen Fauna.

Von Dr. **A. Looss**, Professor of Parasitology, School of Medicine, Cairo.

Mit 4 Figuren.

Opisthioglyphe rastellus (Olsson).

Fig. 1.

Unter etwa 50 *Opisthioglyphe ranae* (Fröl.) (= *Dist. endolobum* Duj.), die ich im Herbst 1903 in der Umgebung von Torgau aus einer *Rana temporaria* sammelte, fiel ein Individuum äußerlich durch seine ganz ungewöhnliche Größe auf (Länge im konservierten Zustande 3,95 mm, Maximalbreite 0,88 mm im Gegensatz zu 1,6—1,8 mm Länge bei 0,35 bis 0,45 mm der typischen Individuen); in seinem inneren Baue zeigte es die wesentlichen Eigentümlichkeiten der *Opisthioglyphe ranae*, daneben aber auch einige Abweichungen. Bei einem Besuche im biologischen Laboratorium zu Cambridge im Sommer 1906 sah ich eine Anzahl Distomen, die eben einer *Rana temporaria* entnommen worden waren; sie schienen *Opisthioglyphe ranae* zu sein, waren aber sämtlich bedeutend größer und erinnerten mich nach der Konservierung durch Schütteln sofort an das oben erwähnte, von mir selbst gefundene Exemplar. Auf meine Bitte überließ mir Dr. Shipley freundlichst die Würmer zu genauerer Untersuchung; es hat sich bei derselben herausgestellt, einmal, daß das deutsche und die englischen Exemplare tatsächlich derselben Species angehören, und weiter, daß in dieser Species das *Distomum rastellus* Olsson vorliegt, welches ich demnach vor 14 Jahren zu unrecht für identisch mit *Opisthioglyphe ranae* erklärt habe (1894. p. 82 f.). Es handelt sich in ihm vielmehr um eine durchaus selbständige

Form, einen nordischen Gattungsgenossen der *Opisthioglyphe ranae*, der in der Gegend von Leipzig augenscheinlich seine südliche Verbreitungsgrenze findet. Ich schließe das letztere aus dem Umstande, daß mir in den Hunderten von Fröschen, die ich aus der Gegend von Leipzig auf Parasiten untersucht habe, *Opisthioglyphe rastellus* niemals zu Gesicht gekommen ist.

Die durch Schütteln konservierten Tiere haben eine flache und ziemlich gestreckte Form, die übrigens auch *Opisthioglyphe ranae* annimmt, wenn sie auf dieselbe Weise behandelt wird. Länge der erwachsenen Exemplare zwischen 3,5 und 4 mm bei 0,8—0,9 mm Maximalbreite (nach Olsson 4 mm : 1 mm). Vorderkörper breit und breit abgerundet, Hinterkörper ziemlich stark verschmälert und fast spitz endigend. Haut dicht mit feinen Schuppen bewaffnet. Saugnäpfe (bei *Opisthioglyphe ranae* gleich groß) von ziemlich ungleicher Größe und relativ nahe beieinander; Mundsaugnapf 0,33—0,35 mm (nach Olsson 0,35 mm), Bauchsaugnapf 0,24 bis 0,27 mm (nach Olsson 0,25 mm) im Durchmesser, ersterer mit längsgestellter Oeffnung. Pharynx kräftig, etwas birnförmig, 0,2 mm dick (nach Olsson 0,19 mm); Oesophagus kurz, kaum länger als der Pharynx, jedoch ist seine Wand stark gefaltet, so daß er sich offenbar länger dehnen kann. Darmschenkel bis ins Hinterende reichend, oft nicht ganz gleich lang. Exkretionsporus schwach dorsal, Blase Y-förmig mit sehr langem Stamme, da die Teilung in die kurzen Schenkel erst zwischen vorderem Hoden und Keimstock erfolgt.



Fig. 1. *Opisthioglyphe rastellus* (Olsson). Konserviertes Exemplar von der Bauchseite. Vergr. ca. 35.

Genitalporus etwas linksseitig dicht hinter der Darmgabelung und von dieser nicht weiter entfernt als von dem Vorderrande des Bauchsaugnapfes (bei *Opisthioglyphe ranae* infolge der größeren Entfernung der Saugnäpfe bedeutend weiter vor dem Bauchsaugnapfe). Kopulationsorgane wohlentwickelt; Cirrhusbeutel den Bauchsaugnapf um dessen Durchmesser nach hinten überragend (bei *Opisthioglyphe ranae* nicht länger als der Durchmesser des Bauchsaugnapfes und ganz vor diesem gelegen), zur Hälfte von der Samenblase ausgefüllt. Hoden, je nach Streckung vom Hinterende mehr oder minder weit entfernt, mit schwach seitlicher Abweichung dicht hintereinander, ihre Ränder mehrfach schwach eingekerbt. Keimstock kleiner, kugelig, rechts etwas vor dem vorderen Hoden und neben dem Ende des Cirrhusbeutels gelegen, Schalendrüsenkomplex zwischen beiden. Laurerscher Kanal deutlich, Receptaculum seminis bei ganzen Tieren mit Bestimmtheit nicht zu sehen, wahrscheinlich vorhanden, aber klein. Dotterstöcke, aus locker gruppierten Follikeln bestehend, hauptsächlich in den Seiten, jedoch von dort aus mehr oder minder weit auf Bauch- und Rückenfläche übergreifend. Sie über-

ragen hinten die Darmschenkel noch etwas und reichen nach vorn bis zum Mundsaugnapfe (bei *Opisthioglyphe ranae* nur bis zur Darmgabelung). Uterusschlingen ventral im mittleren Körperteile, nach hinten nicht weiter als höchstens bis zur Mitte des vorderen Hodens, nach vorn bis zum Bauchsaugnapfe reichend. Vagina etwa von halber Länge des Cirrusbeutels und links von ihm gelegen. Eier relativ gering an Zahl und locker im Uterus gelagert; im Aussehen denen der *Opisthioglyphe ranae* gleichend, jedoch kleiner, im Mittel 0,042 : 0,025 mm messend (Olsson gibt 0,036 : 0,02 mm als durchschnittliche Maße) gegen 0,049 : 0,028 mm bei *Opisthioglyphe ranae.*

Ityogonimus filum n. sp.

Fig. 2.

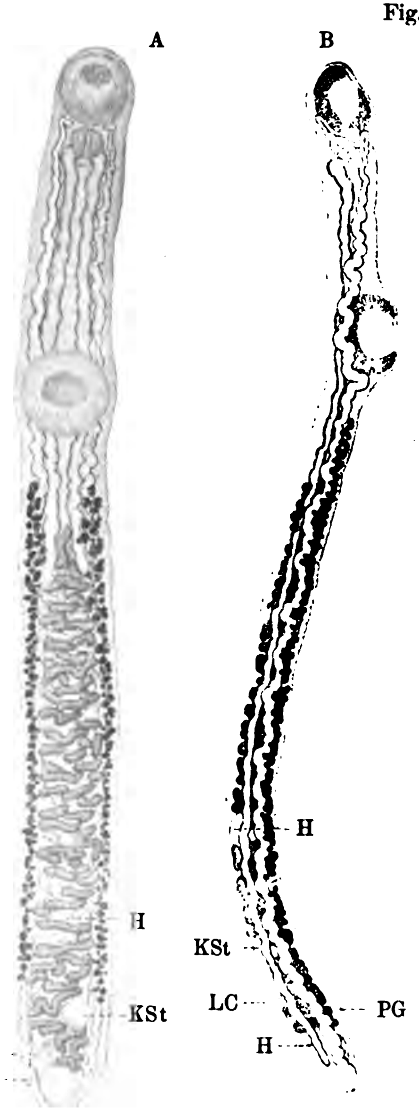


Fig. 2. *Ityogonimus filum* n. sp. Konserviertes Exemplar. *A* vom Bauche, *B* von der rechten Seite gesehen. Vergr. ca. 33.

Im Darme von *Talpa europaea* aus der Umgegend von Leipzig (Eythra).

Eine typische Parallelform zu *Ityogonimus lorum,* mit dem sie die gesamte innere Organisation teilt; die Unterschiede zwischen beiden liegen hauptsächlich in der Körpergröße, dem Größenverhältnis der Saugnäpfe und der Ausdehnung der Dotterstöcke. Die Länge der durch Schütteln konservierten Tiere beträgt 4,5—5 mm, doch scheint dies nicht ihre volle Ausdehnung zu sein, da die Haut bei allen stark gerunzelt ist, was auf einen gewissen Grad von Kontraktion schließen läßt. Breite von vorn bis hinten ziemlich gleichmäßig 0,4—0,43 mm; Dicke etwa halb so groß wie die Breite. Haut unbewaffnet. Saugnäpfe beide ziemlich ansehnlich entwickelt, der Bauchsaugnapf sogar größer als der Mundsaugnapf (Maße 0,28 und 0,38 mm), ungefähr den dritten Teil der Gesamtlänge oder etwas weniger voneinander entfernt. Pharynx kräftig, kugelig, ca. 0,14 mm im Durchmesser. Oesophagus kurz und gewöhnlich dorsalwärts über den Pharynx zurückgebogen, so daß man bei Betrachtung der Tiere von der Bauchfläche nur seinen optischen Querschnitt sieht. Darmschenkel stark gefaltet, im Vorderkörper einander

genähert, hinten etwas weiter auseinanderweichend und mehr dorsal als ventral gelegen, bis ins äußerste Körperende reichend. Exkretionsporus ein wenig dorsal verschoben; Blase Y-förmig mit ganz kurzem, kugelförmigem Stamme und langen Schenkeln, die in starken Windungen außerhalb der Darmschenkel und ventral von ihnen bis vor den Pharynx nach vorn ziehen, dort unter Schlingenbildung nach dem Rücken aufsteigen und schließlich wieder bis etwa zum Hinterende des Pharynx zurückkehren. Eine Vereinigung der beiderseitigen Schenkel findet nicht statt, obwohl sich ihre Windungen über dem Pharynx gelegentlich stark nähern.

Genitalporus eine Kleinigkeit rechts der Mittellinie vor dem hinteren Hoden. Die Endteile der Leitungswege waren weder vom Bauche noch von der Seite genau zu analysieren; man sieht nur etwas mehr rechts und vorn ein stark muskulöses Metraterm, das gewöhnlich bis dicht an den Porus mit Eiern gefüllt ist, und den histologisch gleich ausgestatteten Endabschnitt eines Ductus ejaculatorius; beide steigen fast gerade vom Porus nach dem Rücken auf. Die Lage der Keimdrüsen ist die für *Ityogonimus* charakteristische; ein Hoden im äußersten Hinterende dicht vor der Exkretionsblase; eine kurze Strecke vor ihm und mehr linksseitig das kleinere Ovarium und etwas weiter vor diesem und mehr rechts der vordere Hoden; die beiden letztgenannten Drüsen außerdem etwas mehr dorsal und von der Bauchseite her mehr oder minder von Uterusschlingen verdeckt. Schalendrüsenkomplex dem Keimstock von hinten her angelagert; Laurerscher Kanal vorhanden, Receptaculum seminis fehlt. Dotterstöcke ventral und außerhalb von den Exkretionsblasenschenkeln vom Vorderrande des Keimstockes an bis nicht ganz zum Bauchsaugnapfe jederseits ein dünnes Band von Follikeln bildend. Die vordere Umbiegungsstelle des Uterus liegt gewöhnlich ebensoweit hinter dem Vorderende der Dotterstöcke, als dieses hinter dem Bauchsaugnapfe. Die strohgelben, sehr dünnschaligen und nach dem hinteren Pole zu meist stärker verjüngten Eier sind 0,029—0,032 mm lang und 0,013—0,015 mm dick.

Platynosomum (n. g.) ***semifuscum*** (n. sp.)

Fig. 3.

Zwei nicht mehr ganz gut erhaltene Exemplare von Herrn Prof. Parona gesammelt und mir zur Bestimmung übersandt. Die Präparate waren etikettiert „*Circetus gallicus*, Genova, Marzo 1900“ (*Circetus* vermutlich = *Circaetus*).

Länge der etwas flachgedrückten Individuen 9,5 und 10,25 mm; Maximalbreite 2,4 und 2,8 mm. Letztere findet sich auf der Höhe der Hoden und nimmt nach vorn zu schnell, nach hinten zuerst ganz langsam ab, so daß der Körper in seinem mittleren Teile im großen und ganzen parallelrandig erscheint. Haut in ganzer Ausdehnung abgefallen. Saugnäpfe wohlentwickelt, nahe beisammen und fast gleich groß; Mundsaugnapf 0,65 und 0,67 mm, Bauchsaugnapf 0,67 und 0,71 mm im Durchmesser; Entfernung ihrer Zentren 1,5 und 1,8 mm. Pharynx klein, kugelig, 0,18—0,19 mm dick, dem Mundsaugnapf dicht angelagert. Oesophagus dünn, etwa 3mal so lang wie der Pharynx, aber in Windungen gelegt, so daß die Entfernung zwischen Pharynx und Darmgabelung kürzer erscheint. Darmschenkel nur noch schwach sichtbar, nicht ganz gleich lang und etwa um die Distanz der Saugnäpfe vom Hinterende entfernt endigend. Vom Exkretionsgefäßsystem ist nur der Porus am Hinterende und der Endteil der Blase sichtbar.

Genitalporus ganz leicht linksseitig auf dem Niveau der Darmgabelung. Kopulationsorgane vorhanden, aber anscheinend nicht sehr muskelkräftig. Cirrhusbeutel 0,7—0,8 mm lang, plump sackförmig mit 0,25—0,3 mm größter Weite, je nach der Ausdehnung des Vorderkörpers den Rand des Bauchsaugnapfes gerade erreichend oder noch vor ihm endigend. In seiner hinteren Hälfte eine mäßig dicke, aber stark gewundene Samenblase, in der vorderen Hälfte ein ebenfalls gewundener dünner Ductus ejaculatorius. Pars prostatica mit Sicherheit nicht abzugrenzen, anscheinend nur schwach entwickelt. Hoden groß, länger als breit, mit mehrfach scharf eingebuchteten Rändern, symmetrisch dicht hinter, zum Teil noch neben dem Bauchsaugnapfe, ihre Vorderenden mit dem Zentrum desselben auf einer Höhe gelegen. Keimstock kleiner, unregelmäßig dreieckig und ebenfalls mit eingekerbtem Rande, dicht hinter einem der Hoden gelegen. Es ist dies bei einem meiner Individuen der linke, bei dem anderen der rechte, so daß ein Situs inversus bei dieser Art ziemlich häufig zu sein scheint. Schalendrüsenkomplex median und dorsal über dem inneren Ende des Keimstockes; ein im Mittel 0,02 mm weiter Laurerscher Kanal ist unschwer zu sehen, ein kleines Receptaculum seminis ist anscheinend ebenfalls vorhanden, aber nicht sehr deutlich. Dotterstöcke in den Seiten der Bauchfläche und in der Hauptsache außerhalb der Darmschenkel, vom Hinterende der Hoden bis gegen die Körpermitte hin sich ausdehnend. Von den queren Dottergängen entspringt derjenige der dem Keimstock entgegengesetzten Körperseite auffallend weiter hinten als der andere; der aus dem kleinen Receptaculum vitelli hervorkommende unpaare Dottergang tritt von hinten her in den Schalendrüsenkomplex ein. Die Uterusschlingen erfüllen den gesamten Hinterkörper von den Keimdrüsen an, und einzelne von ihnen ragen weit über die Darmschenkel nach den Seiten hinaus. Die relativ dünne Vagina ist etwas länger als der Cirrhusbeutel, mehrfach gewunden und mündet vor der männlichen Oeffnung in den Genitalsinus aus.

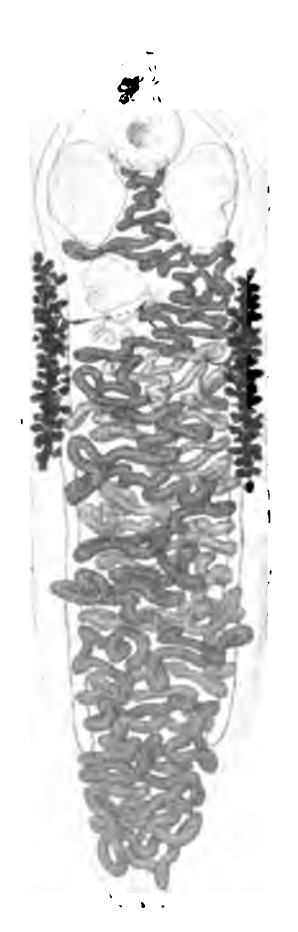


Fig. 3. *Platynosomum semifuscum* n. sp. Konserviertes Exemplar von der Bauchseite. Vergr. ca. 14.

Eier mit relativ dicker, rotbrauner Schale, regelmäßig oval, 0,034—0,039 mm lang und 0,027—0,029 mm dick.

Von den bekannten Dicrocölien steht *Dicroc. illiciens* Braun der hier beschriebenen Art unzweifelhaft sehr nahe, doch ist es von vornherein ziemlich unwahrscheinlich, daß eine bisher nur aus früchtefressenden Vögeln Brasiliens bekannte Art sich auch in einem Raubvogel der Mittelmeerländer finden sollte. Ueberdies unterscheidet sich

Platynosomum semifuscum von *Dicroc. illiciens*, von seinen etwas bedeutenderen Dimensionen abgesehen, durch fast gleich große Saugnäpfe, den gelappten, nicht bohnenförmigen Keimstock und etwas längere Dotterstöcke. *Dicroc. voluptarium* Braun aus einer *Falco*-Art Brasiliens ist dem *Platynosomum semifuscum* ebenfalls ziemlich ähnlich, wird aber kaum halb so groß und hat auch keine gelappten Keimdrüsen, während die relative Ausdehnung der Dotterstöcke für beide Arten ungefähr gleich ist.

Die Zahl der bekannt gewordenen Dicrocölien ist in den letzten Jahren beträchtlich gestiegen, und es lassen sich unter ihnen eine Anzahl wohlgesonderter Gruppen unterscheiden. Bei der typischen Art von *Dicrocoelium (Dicroc. lanceatum)* ist der flachgedrückte Körper im Verhältnis zur Länge ziemlich schmal; die größte Breitenausdehnung wird dem Hinterende näher als dem Vorderende erreicht; die Hoden liegen nahe beisammen schräg hintereinander. Außer *Dicroc. lanceatum* gehören hierher *Dicroc. dendriticum* (R.), *Dicroc. albicolle* (R.) und das vor kurzem von mir beschriebene *Dicroc. hospes*. Bei anderen Formen wird der Körper bei zunehmender Länge so schmal, daß er einen mehr oder minder drehrunden Querschnitt erhält und die Hoden, die dann jeder für sich den größten Teil der Körperbreite einnehmen, völlig hintereinander zu liegen kommen. Ich habe für diese Formen die Schaffung einer besonderen Gattung *Lyperosomum* vorgeschlagen; Braun hat dieselbe aufgenommen und *L. longicauda* (R.) zu ihrem Typus bestimmt (1902. p. 106); andere Angehörige dieser Gattung sind *L. olssoni* (Railliet), nach Railliet (1900. p. 1. S.-A) = *Dist. clathratum* Olsson und Mühling nec Deslongch., *L. lobatum* Railliet, *L. strigosum* Lss., *L. corrigia, rudectum* und *salebrosum* Braun. Bei dem oben beschriebenen *Platynosomum semifuscum* ist der Körper im Verhältnis zur Länge merklich verbreitert, und das Breitenmaximum wird viel weiter vorn, auf ungefähr der Höhe der Keimdrüsen erreicht. Von den letzteren liegen die Hoden noch nahe beisammen, aber symmetrisch rechts und links dicht hinter, zum Teil auch neben dem Bauchsaugnapfe. Die gleiche Eigentümlichkeit zeigen u. a. *D. clathratum* Deslongch. (= *D. refertum* Mühling, cf. Railliet, 1900. p. 1. S.-A.), *D. petiolatum* Railliet, *D. deflectens* R., *D. delectans*, *voluptarium*, *reficiens*, *lubens* und *illiciens* Braun. Sie bilden unter sich eine ebenso abgeschlossene Gruppe, wie *Dicrocoelium* im engeren Sinne (s. oben) und *Lyperosomum*, und müssen deshalb als natürliche Gattung betrachtet werden, für die ich den Namen *Platynosomum* mit *Pl. semifuscum* als Typus vorschlage.

In die Gattung *Platynosomum* kann provisorisch auch das *Dist. mutabile* Molin-Lühe eingereiht werden, welches auf Grund seines allgemeinen Baues von Braun bereits als *Dicrocoelium mutabile* bezeichnet wurde (1901. p. 702). Allerdings ist nicht zu verkennen, daß es in diese Gattung nicht völlig hineinpaßt, d. h. kein ganz echtes *Platynosomum* ist. Wohl liegen die Hoden auch bei ihm symmetrisch dicht hinter und zum Teil noch neben dem Bauchsaugnapfe, aber infolge der größeren Körperbreite doch schon so weit auseinander, daß der Keimstock mit seinem Vorderteil zwischen sie hineinrücken kann. Bei weitem mehr auffallend ist aber die augenscheinlich sehr stark muskulöse Beschaffenheit des Körpers, die es den Tieren ermöglicht, sich auf ca. 2 mm Länge und ca. 1 mm Breite bei ca. 0,5 mm Dicke zusammenzuziehen, während die Dimensionen bei ganz ausgestrecktem Körper bis zu 5 mm Länge und 2 mm Breite betragen. Es ist deshalb mehr als wahrscheinlich, daß

sich für *Dist. mutabile* früher oder später die Schaffung einer eigenen Gattung notwendig machen wird, die sich dann direkt an *Platynosomum* anschließt.

Von verschiedenen Autoren ist auch das *Distomum pancreaticum* Janson zu *Dicrocoelium* gestellt worden, und das mit Recht, denn sein gesamter innerer Bau entspricht dem von *Dicrocoelium*. Ich habe neuerdings Gelegenheit gehabt, die Form in Exemplaren verschiedener Herkunft genauer zu untersuchen, und es hat sich dabei ergeben, daß unter ihrem Namen 2 durchaus selbständige Species beschrieben worden sind: außer dem typischen *Dist. pancreaticum* Janson eine kleinere Form, aller Wahrscheinlichkeit nach dieselbe, die von Giard und Billet zuerst unter dem Namen *coelomaticum* bekannt gemacht wurde und deshalb diesen Namen zu behalten hat. (Näheres hierüber wird an einem anderen Orte veröffentlicht werden.) Beide Arten sind Angehörige einer eigenen Gattung *Eurytrema* n. g., die sich von *Platynosomum* durch noch stärkere Verbreiterung und gleichzeitige Verdickung des Körpers unterscheidet und überdies eine höhere Entwickelung der Exkretionsblase und der Genitalendorgane aufweist. Die Hoden liegen hier ebenfalls symmetrisch dicht hinter dem Bauchsaugnapfe, aber infolge der größeren Körperbreite ziemlich weit auseinander.

Eine vermittelnde Stellung zwischen *Platynosomum* und *Eurytrema* nimmt das jüngst (1901) von Braun beschriebene *Dicroc. concinnum* ein; es besitzt noch den stark abgeflachten Körper und anscheinend auch die einfache Exkretionsblase von *Dicrocoelium* und *Platynosomum* (über die Gestaltung derselben bei der letzteren Gattung fehlt zur Zeit leider noch alle genauere Kenntnis, doch ist zu vermuten, daß sie derjenigen von *Dicrocoelium* gleicht), schließt sich dagegen durch seinen stark verbreiterten Körper, die weite räumliche Trennung der Hoden und den zickzackförmigen Verlauf der Darmschenkel an *Eurytrema* an. Auch die eigentümlich fächerartige Anordnung der Dotterstöcke erinnert an die Gestalt, welche diese Organe bei stärker kontrahierten *Eurytrema*-Exemplaren zur Schau tragen. Ein Charakter ganz eigener Art, in dem *Dicroc. concinnum* von allen zur Zeit bekannten Dicrocöliiden abweicht, ist der Besitz eines feinen, dichten Schuppenkleides. Da aus anderen Beispielen bereits bekannt ist, daß die Ausstattung der Haut selbst bei nahe verwandten Formen verschieden sein kann, so dürfte auch in dem gegenwärtigen Falle die Bestachelung der Haut höchstens als Gattungscharakter betrachtet werden können. Denn Repräsentant einer eigenen Gattung ist *Dicroc. concinnum* ohne Zweifel, und diese Gattung stellt ein Bindeglied zwischen *Dicrocoelium-Platynosomum* und *Eurytrema* dar.

Pachytrema (n. g.) *calculus* (n. sp.).

Fig. 4.

Zweimal in je 2 Exemplaren in der Gallenblase von *Larus ridibundus*, später von Prof. Cori in wiederum 2 Exemplaren in demselben Organ bei *Larus argentatus* gefunden (Hafen von Triest).

Die Tiere sind von sehr gedrungener Körpergestalt und so dick, daß ich sie beim Oeffnen der Gallenblase im ersten Momente für Gallensteinchen hielt. Länge der konservierten und trotz Schüttelns ziemlich stark kontrahierten Exemplare 5—5 $^1/_2$ mm; Umriß breit eiförmig bei einer Maximalbreite von 3,8—4 mm; das Hinterende mit dem Porus excretorius leicht papillenartig erhoben. Dicke reichlich 3 mm. Die Rückenfläche ist in der Hauptsache eben oder selbst ein wenig konkav,

die Bauchfläche dagegen so stark vorgewölbt, daß der Bauchsaugnapf bei Betrachtung des auf dem Rücken liegenden Tieres an dem vorderen Körperende, der Mundsaugnapf dagegen etwas rückwärts und unter ihm gelegen erscheint. Die Bauchfläche läßt überdies einen Teil der Uterusschlingen in Gestalt etwas erhabener, unregelmäßiger schwarzer Linien und Flecke durchscheinen. Haut glatt, in der Nähe des vorderen Körperendes mit zahlreichen Tastpapillen. Saugnäpfe einander stark genähert, relativ klein und von ungefähr gleicher Größe (Mundsaugnapf 0,28—0,29 mm, Bauchsaugnapf 0,3 mm). Auf den Mundsaugnapf folgt mit kurzem Präpharynx ein kräftiger, leicht birnförmiger Pharynx von 0,16 mm Querdurchmesser und 0,17 mm Länge; auf diesen ein ganz kurzer Oesophagus von 0,1 mm Länge, der nur auf Schnitten erkennbar ist, und dann die äußerst geräumigen und meist prall mit Gallensubstanz gefüllten Darmschenkel, die den Körperrändern parallel laufen und nahe am Exkretionsporus endigen. Dieser letztere liegt in Wirklichkeit terminal, erscheint infolge der starken Wölbung der Bauchfläche aber ganz auf der Dorsalseite. Die Blase ist nur auf Schnitten zu erkennen. Sie hat Y-Form mit bis an den Keimstock heranreichendem Stamme und langen Schenkeln, die ungefähr in der Mitte zwischen Bauch- und Rückenfläche, und ohne sich in seitlicher Richtung weit von der Mittellinie des Körpers zu entfernen, nach vorn ziehen, in den Seiten des Oesophagus nach dem Rücken aufsteigen, und hier vor ihrem Ende nochmals eine kurze Strecke weit nach rückwärts laufen.

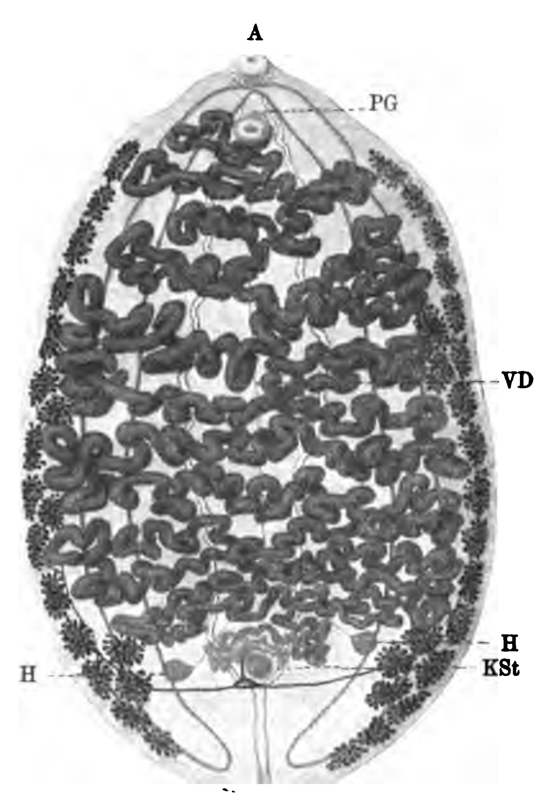


Fig. 4. *Pachytrema calculus* n. sp. *A* Ventralansicht eines lebendig gepreßten und gefärbten Exemplares. Infolge der Pressung sind Länge und Breite beinahe doppelt so groß geworden wie bei ungepreßten Tieren. Vergr. ca. 10.

Genitalporus schwach linksseitig verschoben dicht vor dem Bauchsaugnapf. Eigentliche Kopulationsorgane sind nicht vorhanden. Die beiden sehr kleinen, kugeligen oder leicht birnförmigen und in letzterem Falle mit ihrer längeren Achse mehr oder minder senkrecht auf die Rückenfläche zu gerichteten Hoden liegen nahe dem Körperende an der Ventralfläche und zum größeren Teile noch innerhalb der Darmschenkel, rechts und links nicht ganz auf gleicher Höhe. Ihre Vasa efferentia

streben nach vorn und der Mittelebene des Körpers zu und vereinigen sich in dieser ungefähr 0,8 mm vor dem Keimstock zu einem gemeinsamen Vas deferens von 0,017 mm mittlerer Weite, welches in fast gerader Linie den Körper nach vorn durchläuft. In einer Entfernung von 0,3—0,35 mm von der Genitalöffnung erweitert es sich ganz unvermittelt zu einer kugeligen Samenblase von 0,13 mm Durchmesser, aus deren vorderem Ende ein stark muskulöser und mit einer dicken Cuticula ausgekleideter Ductus ejaculatorius hervorkommt und sich ohne Bildung von Windungen nach der Genitalöffnung begibt. Eine deutlich abgesetzte Pars prostatica ist nicht zu erkennen, doch liegen im Umkreise des Ductus einige Zellen, die wohl Prostatazellen sein könnten. Gegen das umgebende Parenchym sind Ductus und Samenblase durch eine sackförmige Parenchymlamelle abgegrenzt, in der sich aber selbst nach der Genitalöffnung hin, wo sie am dicksten ist, keinerlei muskulöse Elemente nachweisen lassen. Nach hinten wird sie dünner, endigt aber nicht mit der Samenblase, sondern setzt sich noch ein ganzes Stück auf den gemeinsamen Samenleiter fort, längs dessen sie allmählich verschwindet (*Pl*, Fig. 4).

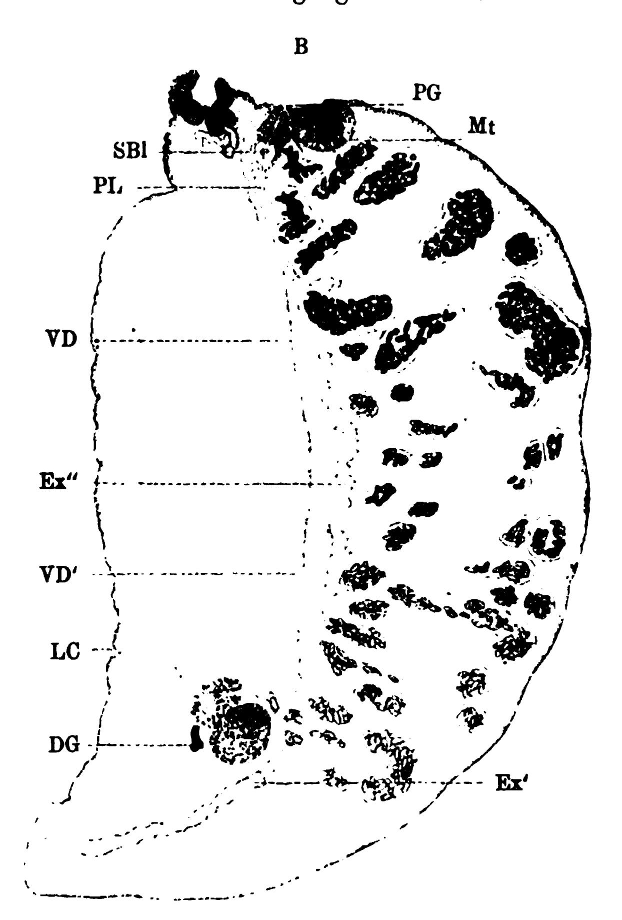


Fig. 4. *B* Medianer Sagittalschnitt durch ein konserviertes Exemplar. Exkretionsblase, Genitalendorgane und innere weibliche Genitalien sind aus mehreren Schnitten ergänzt. *Ex'* Gabelungsstelle der Exkretionsblase, *Ex''* linker Blasenschenkel, *VD'* Zusammentritt der Vasa efferentia zum gemeinsamen Vas deferens. Vergr. ca. 21.

Der den Hoden an Größe gleichkommende kugelige Keimstock findet sich median zwischen den Hoden; der Schalendrüsenkomplex ist ihm von rechts vorn und dem Rücken her dicht angelagert. Ein ziemlich langer, in fast gerader Linie nach dem Rücken verlaufender Laurerscher Kanal ist vorhanden, ein Receptaculum seminis fehlt, doch zeigte der Laurersche Kanal bei einem in Schnitte zerlegten Individuum an seiner Basis eine kleine sackförmige, mit Dotter- und Eizellen ge-

füllte Auftreibung (in der Zeichnung Fig. 4 der Deutlichkeit halber leer gelassen); um sie als Andeutung eines Receptaculums ansprechen zu können, würde es allerdings erst des Nachweises bedürfen, daß sie konstant vorhanden ist.

Die Dotterstöcke sind sehr stark entwickelt und bestehen aus etwa 20, aus zahlreichen, aber kleinen Follikeln zusammengesetzten traubenförmigen Gruppen, die in der Hauptsache in einfacher Reihe außerhalb der Darmschenkel hinziehen, stellenweise aber auch zu zweit nebeneinander gelegen sind und sich dann ventralwärts unter die Darmschenkel erstrecken. Sie beginnen hinten etwas kopfwärts von deren blinden Enden und reichen nach vorn bis fast zur Höhe des Bauchsaugnapfes. Die meist etwas schief verlaufenden queren Dottergänge vereinigen sich dorsal vom Keimstock ohne Bildung eines Dotterreservoirs zum unpaaren Dottergange, der von hinten her in den Schalendrüsenkomplex eintritt; bei einem der Individuen war die in der Fig. 4 wiedergegebene Kollateralverbindung der Dottergänge zu sehen. Auffallend mächtig im Hinblick auf die Kleinheit der Keimdrüsen ist die Entwickelung des Uterus. Er bildet in der Hauptsache Querschlingen, die in der ventralen Körperhälfte bis an die Dotterstöcke heran die ganze Breite durchziehen, in ihrem Verlaufe (besonders in den Seiten) aber noch zahlreiche sekundäre Windungen beschreiben. Alle liegen vor den Keimdrüsen und erstrecken sich nach vorn bis an den Bauchsaugnapf; ein nur 0,2 mm langes, aber wie der Ductus ejaculatorius stark muskulöses und mit einer dicken Cuticula ausgekleidetes Metraterm verbindet den Uterus mit der Genitalöffnung.

Die Eier sind auffällig schlank, relativ dickschalig und von dunkelgelbbrauner Farbe; sie messen im Mittel 0,11 mm in der Länge und 0,044 mm in der Dicke, und enthalten bei der Ablage ein reifes Miracidium mit Kopfzapfen, aber anscheinend ohne Flimmerkleid.

In systematischer Hinsicht dürfte sich das Genus *Pachytrema* an die Opisthorchiiden, besonders *Metorchis*, anschließen, mit denen es nicht nur die Hauptzüge des inneren Baues, sondern auch die Topographie der Organe teilt. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist *Pachytrema* aber der Repräsentant einer eigenen Unterfamilie.

Literatur.

1901. Braun, M., Ein neues Dicrocoelium aus der Gallenblase der Zibethkatze. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXX. p. 700—702.)
1902. — —, Fascioliden der Vögel. (Zool. Jahrb. Syst. Bd. XVI.)
1894. Looss, A., Die Distomen unserer Fische und Frösche. (Bibl. zool. Heft 14.)
1876. Olsson, P., Bidrag till Skandinaviens Helminthfauna. (Svenska Ak. Handl. Stockholm. Vol. XIV. No. 1.)
1900. Railliet, A., Trématodes hépatiques des oiseaux. (Compt. rend. soc. biol. Paris. Séance du 10 mars.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Autocytopräzipitine.

[Laboratorium für allgemeine Pathologie der kgl. Universität zu Siena.]

2. Mitteilung.

Untersuchungen über ein Hepatopräzipitin bei Distomatose.

Von Prof. **Eugenio Centanni.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

(Schluß.)

Hinsichtlich unseres Serums ist die Leber dasjenige Organ, welches ohne Ausnahme das reichlichste Präzipitat ergibt; ihr am nächsten kommt die Niere, während die anderen Organe nur unbedeutende Mengen liefern. Außer mit dem vom Hunde stammenden Material sind die Versuche mit ähnlichen Ergebnissen mit den wichtigsten Organen des Lammes, Ochsen und Kaninchens wiederholt worden. Vielleicht werden einige Schwankungen auftreten und die Proben noch empfindlicher machen können, dadurch daß für jedes Organ der Grad der Reifung und die genaue Menge seines Extraktes bestimmt wird.

Nach der Leber hat die Niere mit der größten Regelmäßigkeit reagiert, aber im allgemeinen liefert sie ein spärlicheres und langsamer erscheinendes Präzipitat. Außerdem habe ich bei den verschiedenen Blutentnahmen vom Schafe gefunden, daß sie im Vergleiche mit der Regelmäßigkeit der Leberreaktion beträchtlichen Schwankungen unterworfen ist. So finden wir z. B., daß bei der Blutentnahme am 3. April die mit der Lammniere angestellte Reaktion reichlich, am 15. Juli dagegen sehr spärlich war und langsam vor sich ging.

Die Konstanz der Leberpräzipitation, die Schwankungen bei der Niere und das vollkommene oder fast vollkommene Fehlen der Reaktion bei den anderen wichtigen Organen und Geweben veranlaßt uns, bei der von uns betrachteten Krankheit eine spezifische Reaktion im Serum für das hauptsächlich affizierte Organ anzunehmen, indem wir die Reaktion der Niere als eine sekundäre Erscheinung ansehen, die von der allgemeinen reinigenden Funktion dieses Organs und seiner funktionellen Beziehungen zur Leber abhängt.

Tabelle 11.

Serum, absorbiert durch	Extrakt (2. Hinzusetzung)	Präzipitat
Lammleber	Lammleber	Spuren
	Lammniere	„
	Hundeniere	Mäßig
Lammniere	Lammniere	Nichts
	Lammleber	Reichlich
	Kaninchenniere	Spuren
Kaninchenleber	Kaninchenleber	Nichts
	Lammniere	Mäßig
	Kaninchenniere	„
Kaninchenniere	Kaninchenniere	Nichts
	Hundeniere	„
	Lammleber	Reichlich

Auch hier können wir uns die Frage vorlegen, ob die Nierenpräzipitation nicht nur einen Bruchteil desselben Prinzipes der Leber darstellt, oder ob sie durch ein ihr eigentümliches Prinzip bedingt ist.

Sieht man auch von dem verschiedenen Verhalten der Nieren verschiedener Tierspecies ab, einem Umstande, der auf das Vorkommen eines wenigstens innerhalb gewisser Grenzen für jede Niere spezifischen Prinzips hinweisen kann, so geht doch zweifellos aus diesen Versuchen hervor, daß das Serum ein Präzipitin gegen die Leber und ein anderes gegen die Niere enthält.

IV. Einige Eigenschaften des Serums und des Extraktes gegenüber abschwächenden Agentien.

a) Widerstandsfähigkeit des aktiven Prinzips des Serums und des Extraktes.

Bei den ersten Beobachtungen zeigte der Einfluß der Temperatur, der an dem Präzipitin eines tuberkulösen Serums studiert wurde, daß es sich um ein sehr thermolabiles Prinzip handele, denn schon bei 48° begann seine Wirkung sich abzuschwächen und bei 53° wurde es vollkommen unwirksam. Bei dem vorliegenden Serum ist die Thermolabilität weniger ausgesprochen, denn bei einem halbstündigen Aufenthalte in einer Temperatur von 56° hat das Präzipitin nur wenig gelitten, und man muß schon die Temperatur auf 60° erhöhen, um eine vollkommene Zerstörung zu bewirken. Es zeigt sich daher in dem Verhalten der Präzipitine eine lange Empfindlichkeitsskala von 50° bis zur Gerinnung des Serums, und zwar nehmen den ersten Teil davon die bis jetzt studierten Cytopräzipitine und den zweiten die Hämopräzipitine ein.

Die Zerstörung in der Wärme geht ohne jede Veränderung der Transparenz vor sich. Es zeigt sich hier also ein entgegengesetztes Verhalten als bei der Anwesenheit von Fibrinogen, wie man es z. B. bei der Erhitzung von Peptonserum sieht; dies ist auch ein Beweis dafür, daß hier auf keinen Fall die gewöhnliche Gerinnung vorliegt.

Bei der Temperatur der Umgebung von 10—12° erhält sich das Serum sogar 3 Monate lang wirksam; dagegen ist seine Wirksamkeit bei einer Temperatur zwischen 28—30° schon nach der 3. Woche sehr abgeschwächt und nach 2 Monaten ganz verschwunden.

Das im Vakuum über Schwefelsäure getrocknete Serum ist fast vollkommen wieder löslich, hat aber rasch seine ganze Wirksamkeit eingebüßt, denn bei der schon nach einem Tage angestellten Untersuchung ist von seiner Aktivität nichts mehr nachzuweisen.

Was seine Reaktivierungsfähigkeit anbelangt, so vermag man dem auf 60° erhitzten Serum durch Hinzufügen von frischem Lammserum nicht mehr seine präzipitierende Wirkung wiederzugeben. Ich habe übrigens mehrmals gesehen, daß eine Mischung von Extrakt und Distomatoseserum, die langsam infolge langer Aufbewahrung inaktiv geworden ist, bei Gegenwart frischen, von einer anderen Rasse stammenden Serums, das auf sie gar nicht präzipitierend wirkte, ihre Aktivität wiedergewann (s. Tabelle 12).

Es handelt sich aller Wahrscheinlichkeit nach um einen labilen Ambozeptor, der nur gelinden Abschwächungsmitteln Widerstand leistet. Dieselbe Erscheinung beobachtet man auch bei dem hämolytischen Ambozeptor, der durch Injektion von Leberzellen verschiedener Species erzeugt worden ist (Michaelis und Fleischmann); dieser verliert

Tabelle 12.

Konservierte Reagentien	Frisches Kaninchen-serum	Präzipitat
Distomatoseserum 1,0 + Extrakt 0,2	Ohne	Nichts
„ 1,0 + „ 0,2	0,2	Mäßig
„ 1,0 + „ 0,2	0,5	Reichlich
„ 0,2	1,0	Nichts

bei 51—52° schon fast vollkommen seine Reaktivierungsfähigkeit und unterscheidet sich hierdurch von der Thermostabilität des hämolytischen Ambozeptors, welcher durch Injektion von Blut erzeugt worden ist.

Was das Leberextrakt anbetrifft, so liefert es bei einer halbstündigen Einwirkung einer Temperatur von 50—55° ein starkes Koagulum und die zentrifugierte Flüssigkeit zeigt sich nicht mehr im stande, eine Reaktion auszulösen. Durch die Studien an den Eiweißkörpern der Zelle (Ploss, Halliburton, Bottazzi) ist es bekannt, daß ein beträchtlicher Teil von ihnen zwischen 38 und 52° gerinnt; man muß hier aber streng unterscheiden zwischen dem Falle, in dem die Wärme einen fermentativen Prozeß in Tätigkeit setzt, und demjenigen, wo der Prozeß selbst ein Gerinnungsvorgang ist.

Das im Vakum ausgetrocknete und dann mittels isotonischer Lösung wieder auf sein früheres Volumen gebrachte Extrakt löst sich nur teilweise wieder auf und die Flüssigkeit ist wenig oder gar nicht aktiv.

b) Ueber die Bildung der Toxoide.

Der Vorgang der Abschwächung legt uns die Frage nahe, ob sie im stande ist, das Molekül vollkommen zu zerstören oder ob in Uebereinstimmung mit den anderen Immunkörpern (Kraus und v. Pirquet, Eisenberg) ein Teil von ihm, das Haptophor, übrig bleibt.

Als abgeschwächtes Produkt des Serums habe ich jenes Serum genommen, welches durch einen halbstündigen Aufenthalt bei 62° rasch inaktiviert, und jenes, welches nach einem 3 Monate langen Stehen in der gewöhnlichen Sommertemperatur abgeschwächt worden war. Das inaktivierte Serum und das Extrakt ließ man zunächst 1 Stunde lang im Brutofen miteinander in Kontakt und fügte alsdann das aktive Serum hinzu.

Tabelle 13.

Inaktiviertes Serum	Autolytisches Leberextrakt	Aktives Serum	Resultate
Distomatoseserum bei 62° 1,0	0,20	Distomatoseserum 1,0	Nichts
„ nach 3 Mon. 1,0	0,20	„ 1,0	Typisch. Präzipit.
Isotonische Lösung 1,0	0,20	„ 1,0	„ „

Das bei 62° inaktivierte Serum hat auf das Extrakt in der Weise eingewirkt, daß dasselbe nicht mehr fähig ist, mit dem aktiven Serum zu reagieren. Bemerkenswert ist, daß, während bei der raschen Abschwächung dieses Vermögen bestehen bleibt, nach einer langen Aufbewahrungszeit dagegen das ganze Molekül zerstört und das Serum indifferent geworden zu sein scheint. Man müßte daher in dem bei 62° inaktivierten Serum das Vorhandensein eines Präzipitinoids annehmen; da man aber das lösende Prinzip und den Umstand berücksichtigen muß, daß dieselbe Fähigkeit, wenn auch in geringerem Maße, den normalen

Seris eigen ist, so kann diese Erklärung noch nicht als unwiderruflich richtig hingestellt werden.

Um ein abgeschwächtes Produkt des Extraktes zu bekommen, habe ich bei seiner leichten Gerinnbarkeit nicht den raschen Einfluß der Wärme benutzt, sondern habe es für angebracht gehalten, ein lange Zeit bei einer durchschnittlichen Temperatur von 15° aufbewahrtes Extrakt zu verwenden, welches zwar wenig sedimentiert, aber doch nicht mehr durch aktives Serum präzipitierbar war. Man mischt 1 ccm aktiven Serums mit 0,2 ccm dieses inaktivierten Extraktes und fügt nach einem verschieden langen Kontakt im Brutofen (1—10 Stunden) 0,2 ccm aktiven Extrakts hinzu. Bei dem 1 Stunde lang in Kontakt gelassenen Material zeigt sich regelmäßig ein Präzipitat; dagegen erscheint kein Präzipitat bei dem 10 Stunden lang in Kontakt gewesenen Material.

Es scheint also, daß das aktive Prinzip des Extraktes bei der langsamen Abschwächung, die es durch den langen Aufenthalt bei einer durchschnittlichen Temperatur von 15° erlitten hat, nur einen Teil des Moleküls einnimmt, während das Haptophor übrig bleibt: ein Präzipitogenoid. Und wir haben auch einen Beweis dafür, daß die Avidität dieses Haptophors im Vergleiche zu der des aktiven Moleküls geringer geworden ist, weil das inaktivierte Extrakt, wenn man nicht den Kontakt über 1 Stunde verlängert, von dem später hinzugefügten aktiven Molekül verdrängt wird.

Wie man sieht, zeigen die Bestandteile, welche bei der von uns studierten Reaktion wirksam sind, im allgemeinen eine Uebereinstimmung mit den Immunkörpern.

c) Ueber den Einfluß antiseptischer Stoffe.

Da wir mit Materialien arbeiten, die so günstige Nährböden für Bakterien darstellen, so hat das Ausfindigmachen eines geeigneten Antiseptikums auch für die eventuelle Anwendung der Reaktion in der Praxis großen Wert und außerdem ermöglicht es, eingehendere analytische Untersuchungen an den Zellextrakten anzustellen und so unsere Kenntnisse über ihre wirksamen Prinzipien zu vertiefen. Ich habe die gewöhnlichsten Antiseptica, die man beim Arbeiten mit Gewebsextrakten anwendet, untersucht und vor allem ihren Einfluß auf die autolytische Präzipitation des frisch hergestellten Leberextraktes im Brutofen festzustellen gesucht.

Tabelle 14.

Desinficiens	Präzipitat	
	Zeit	Menge
Toluol	1. Tag	38,6 cg
Chloroform	1. „	43,1 „
Aether	1. „	40,5 „
Thymol	milchig	spärlich
Ohne	2.—6. Tag	34,6 cg

Die Desinfizientien Toluol, Chloroform und Aether rufen an dem Extrakt bei 37° zwei Veränderungen hervor. Die eine besteht darin, daß die Präzipitation beschleunigt wird; im allgemeinen findet sich dann nach einem eintägigen Aufenthalte im Brutschranke eine Sedimentschicht, die von einer darüberliegenden klaren Schicht scharf getrennt ist. Die andere Veränderung zeigt sich darin,

daß die definitive Menge des Präzipitates größer wird, und zwar ist sie am größten bei Anwendung von Chloroform und Aether, da diese Stoffe bekanntlich die Eigenschaft besitzen, unter anderem auch den Blutfarbstoff zu präzipitieren.

Das Thymol hält die Präzipitation auf und macht bei nur geringer Ueberschreitung der passenden Dosis die Mischung milchig.

Fügt man das Extrakt, welches in gleichen Teilen Glycerins und Wassers aufbewahrt ist, dem Serum hinzu, so hält es die Präzipitation nicht auf; da es sehr dicht ist und sich außerdem mit der Zeit am Boden des Röhrchens absetzt, so eignet es sich nicht zur Anstellung der typischen Schichtenprobe. Günstiger ist das Glycerin, wenn man es an Organstücken anwendet; entfernt man dann dasselbe durch Abwaschen nach Möglichkeit von der Oberfläche der Organstücke vor ihrer Zerreibung, so erhält man auch nach mehrwöchiger Aufbewahrung eine wirksame Emulsion, wenn bei dem einfachen Extrakt schon seit langem die autolytische Phase eingetreten ist. Seine Wirksamkeit ist indessen verringert.

Was den Einfluß der Antiseptica auf die Reaktion anbetrifft, so habe ich darüber einige besondere Versuche mit Toluol angestellt.

1) Aseptisch aufbewahrtes Distomatoseserum und Leberextrakt werden kurz vor ihrer Vereinigung mit Toluol gesättigt. Die Reaktion ist positiv. Der Kontrollversuch mit Lammserum fällt negativ aus.

2) Das in Toluol aufbewahrte Distomatoseserum reagiert noch nach 7 Tagen, aber nicht mehr nach 15 Tagen.

3) Natürliches Kaninchenleberextrakt läßt man im Brutofen unter einer Schicht Toluol reifen. Nimmt man davon in verschiedenen Zwischenräumen einige Proben, zentrifugiert sie und vereinigt sie durch Mischung und durch Ueberschichtung mit aktivem Serum, das auch mit Toluol gesättigt ist, so erhält man folgende Resultate.

Tabelle 15.

Zeit der Autolyse	Distomatoseserum		Normales Lammserum
	Ueberschichtung	Mischung	
Sofort	Regulär. Präzip.	Spuren	Nichts
4 Stunden	„ „	Mäßig	„
8 „	„ „	Regelm. Präzipitat	„
10 „	„ „	„ „	„

In Gegenwart des Toluols kann sich die autolytische Reifung des Extraktes entwickeln, und zwar wird sie im Vergleiche zu dem Extrakt allein um ungefähr ein Drittel der Zeit beschleunigt; dies steht in Beziehung zu der beschleunigenden Wirkung, welche die Antiseptika auf die Präzipitation ausüben.

4) Reifes und natürliches Leberextrakt werden unter Toluol in der Temperatur der Umgebung von 15° gelassen, wo das aseptische Extrakt ganz langsam präzipitiert wird und noch länger als 4 Wochen brauchbar bleibt. Zentrifugiert man es nach 2 Tagen und behandelt es mit Distomatoseserum, so erhält man nur ganz wenige Flocken und nach 8 Tagen nur ganz geringe Spuren eines Niederschlages. Das Material ist in diesem Zeitraume nur wenig präzipitiert und das Zentrifugat macht einen sehr dichten Eindruck; bringt man es jedoch in den Brutschrank, so zeigt es manchmal keine Neigung, sich zu verändern, d. h. das Antiseptikum hat bei verlängertem Kontakt die Agentien der autolytischen Entwickelung zerstört.

Das Toluol kann man also nur bei einem raschen, einige Stunden währenden Kontakt anwenden, sobald es sich um die Entwickelung der Reaktion im Brutschranke handelt.

V. Ueber die Löslichkeit des Präzipitats.

Um die Versuche über die Löslichkeit anzustellen, haben wir, abgesehen von dem Präzipitat, das man mittels der Reaktion zwischen dem Distomatoseserum und dem Leberextrakt erhält, vergleichsweise das spontane Präzipitat des autolytischen Extraktes und das spontane Präzipitat des konservierten Distomatoseserums untersucht.

Das Präzipitat des autolytischen Extraktes wurde nach der völligen Sedimentation im Brutschranke entnommen. Um es zu erhalten, wurden folgende Maßnahmen angewandt: Das Extrakt wurde mittels der einfachen Zentrifugation in der gewohnten Weise geklärt, aber um das Zellplasma frei von jedem Detritus zu erhalten, wurde es durch eine Berkefeld-Kerze filtriert; die so erhaltene ganz klare Flüssigkeit unterliegt bei ihrem Aufenthalte im Brutschranke regelmäßig auch der Autolyse und liefert ein flockiges Präzipitat.

Was das spontane Präzipitat des Serums anbelangt, so tritt hier eine Erscheinung auf, welche große Aehnlichkeit mit derjenigen hat, die wir in der vorhergehenden Arbeit schon bei dem Serum von Tuberkulösen beobachtet haben. Das Distomatoseserum hat, schon wenn es sich von dem Koagulum trennt, ein trübes Aussehen; die Trübung nimmt immer mehr zu, und schließlich bilden sich Flocken, welche sich in 8—10 Tagen als eine dünne Schicht am Boden des Röhrchens sammeln. Die Intensität dieser Erscheinung ist bei den verschiedenen

Tabelle 16.
Versuche mit durch Autolyse und durch Präzipitation gewonnenem Sediment.

Lösungsmittel	1:10	1:100	1:1000	1:10000
Aetznatron	Sofortige Lösung	Langsame Lösung	Nichts	Nichts
Natriumkarbonat	Nichts	Nichts	"	"
Natriumnitrat	"	"	"	"
Essigsäure	"	"	"	"
Salzsäure	Stärker trübe	Stärker trübe	"	"

Magensaft = Augenblickliche Lösung
Indifferentes Serum = Nichts
Chloroform, Aether = "
Destilliertes und isotonisches Wasser = "

Tabelle 17.
Versuche mit dem spontanen Präzipitat des Serums.

Lösungsmittel	1:10	1:100	1:1000	1:10000
Aetznatron	Große Flocken	Opaleszierend	Opaleszierend	Nichts
Natriumkarbonat	Teilweise Lösung	Nichts	Nichts	"
Natriumnitrat	Völlige Lösung	Völlige Lösung	"	"
Essigsäure	Opaleszierend	Opaleszierend	Flöckchen	"
Salzsäure	Stärker trübe	"	Opaleszierend	Flöckchen

Magensaft = Stärker trübe
Indifferentes Serum = Nichts
Aether, Chloroform = Nicht merklich
Destilliertes und isotonisches Wasser = Nichts

Blutentnahmen verschieden; in einigen Fällen erreicht sie einen so hohen Grad, daß man große Flocken bemerken kann und das Serum einen stark getrübten Eindruck macht.

Aus diesen drei Sedimentarten stellte man sich eine dichte Suspension in Wasser her, die man in Mengen von 1—2 Tropfen zu 5 ccm des zu untersuchenden Lösungsmittels hinzufügte (s. Tabelle 16 u. 17).

Bei diesen Versuchen beobachtete man die Löslichkeit, die im Augenblicke und ferner diejenige, die nach 3—5-tägiger Aufbewahrung der Röhrchen eintrat; es zeigte sich hierbei, daß ein großer Unterschied nicht bestand.

Hieraus sieht man, daß diese Art von Präzipitaten sich den verschiedensten und energischsten Lösungsmitteln gegenüber als überaus resistent erweist und in diesem Punkte also dem Blutfibrin vergleichbar ist.

Die durch Autolyse und Präzipitation entstandenen Präzipitate verhalten sich in derselben Weise. Unter den untersuchten Agentien ist es nur das Aetznatron in konzentrierter Form und der Magensaft, dem sie keinen Widerstand leisten. Merkwürdig ist die Wirksamkeit des letzteren; denn läßt man in die Röhrchen, in denen das Präzipitat mit den einfachen Salzsäurelösungen mehrere Tage lang vergebens in Kontakt gewesen ist, einige Tropfen einer Pepsinlösung fallen, so tritt sofort in der Kälte eine vollkommene Lösung ein, und zwar um so besser, wenn das Extrakt vorher durch eine Kerze filtriert worden ist. In der ersten Zeit fehlt die Biuretreaktion, die erst bei längerem Aufenthalte im Brutschranke auftritt. Der günstigste Aciditätsgrad ist für die Salzsäure 1 : 500; Essigsäure wirkt, wenn auch etwas langsam, im Verhältnis von 1 : 10 und 1 : 100. Das Blutfibrin löst sich unter denselben Verhältnissen, nur muß man eine längere Zeit anwenden.

Was das Stärkerwerden der Trübung anbelangt, die sich besonders bei den sauren Lösungen bemerkbar macht, so muß man das eventuelle Vorhandensein von Rückständen nicht präzipitabler Eiweißkörper in Betracht ziehen, besonders wenn das Material nicht hinreichend gewaschen ist, wie es bei dem spontanen Präzipitat des Serums, das sich schwer zentrifugieren läßt, der Fall ist.

Die Löslichkeit der Zelleiweißkörper ist von verschiedenen Forschern untersucht worden. Ihre Resultate stimmen aber nicht überein, und zwar liegt dies zum Teil daran, daß sie verschiedene Methoden der Extraktion anwandten, zum Teil aber auch daran, daß sie das Stadium der autolytischen Umwandlung nicht berücksichtigt haben, während dessen sich die Löslichkeit, wie man sieht, so gründlich verändern kann.

Die vollkommen gleiche Art und Weise im Verhalten des Sedimentes der spontanen Autolyse und des Präzipitins kann uns zu der Annahme veranlassen, daß es sich in den beiden Fällen um ein und dieselbe Substanz handeln muß, eine Vermutung, die durch andere Tatsachen bestätigt wird, und zwar besonders durch den Umstand, daß das Extrakt jedesmal dann inaktiviert wird, wenn man die präzipitablen Eiweißkörper entfernt oder mittels der Antiseptika verändert.

Dieser Vorstellung entsprechend, muß man die Natur der hier studierten Reaktion erklären, und zwar in folgender Weise: Während nämlich das normale Serum Prinzipien besitzt, welche der Autolyse der Zelleiweißkörper entgegenwirken, überwiegt in unserem präzipitierenden Serum ein Produkt, welches diese Veränderung in einem bestimmten Stadium nach ihrem Beginne

beschleunigt, indem es auf eins der intermediären Produkte des Eiweißabbaues als typischer Katalysator wirkt. Eine ähnliche Vorstellung hat mich bei den Untersuchungen über das Fiebergift geleitet: das Pyrotoxin würde demnach eine Reizwirkung auf eine der intermediären Phasen der Gewebszersetzung ausüben.

Man kann nicht einfach annehmen, daß in dem präzipitierenden Serum das normale anti-autolytische Prinzip zerstört ist. Zunächst zeigt das präzipitierende Serum nach seiner Inaktivierung wieder die gewöhnlichen anti-autolytischen Eigenschaften des normalen Serums, weil letztere Eigenschaft am widerstandsfähigsten ist; überdies tritt die Präzipitation so rasch und so vollkommen auf und wird so wenig durch die Temperatur unterstützt, daß man die Erscheinung nicht mit der bei einer Mischung von Extrakt und indifferenter Flüssigkeit auftretenden vergleichen kann, sondern daß man sie als Zeichen eines aktiven präzipitierenden Vermögens ansehen muß.

Was das spontane Präzipitat des Serums anbetrifft, so zeigt es entschiedene Unterschiede gegenüber den beiden vorhergehenden, und zwar besonders durch die Art und Weise, wie es sich gegenüber Aetznatron und Natriumnitrat verhält. Das Aetznatron bewirkt anfangs eine Aufhellung der Emulsion, nach einer gewissen Ruhepause aber findet man einen dünnen Niederschlag aus großen Flocken. Das beste Reagens stellt das Natriumnitrat dar, welches rasch eine völlige Lösung herbeiführt. Das Natriumnitrat ist übrigens schon früher zur Auflösung des Blutfibrins angewandt worden, allerdings nicht mit eindeutigem Erfolge.

Die erste Erklärung, die man über die Natur dieses Präzipitates findet, lautet dahin, daß das Präzipitat durch das Zusammentreffen von schon vorgebildetem Präzipitin mit dem in Lösung befindlichen Leberextrakt im Kreislaufe entsteht, und daß gleichzeitig damit eine Exacerbation des Krankheitsprozesses stattfindet.

Diese Erklärung scheint nicht durch den Vergleich der Löslichkeitsverhältnisse unterstützt zu werden. Uebrigens haben sich diese spontanen Präzipitate und diese Opaleszenzen der Sera aus den verschiedenartigsten Stoffen (Globulinen, Lecithinen, Proteide etc.) gebildet. Daher muß man eine große Menge von Präzipitat eingehend analysieren, wenn man sich ein endgültiges Urteil über die vorliegende Frage bilden will.

VI. Ueber die direkte Mischung des Organextraktes mit normalem Serum.

Einige von den von uns auseinandergesetzten Tatsachen könnten, anstatt durch die Gegenwart eines reagierenden Immunkörpers, durch eine einfache Mischung der Zersetzungsprodukte der betreffenden Organe mit dem normalen Serum erklärt werden. Dies wird uns eine Gelegenheit zur Beobachtung der Erscheinungen geben, die bei der Herstellung dieser Mischung außerhalb des Organismus auftreten werden.

a) Versuche mit nativem Extrakt.

Mit dem Serum wird das schon präparierte Extrakt gemischt oder das betreffende Organ wird ohne einen Zusatz fremder Flüssigkeit direkt in dem normalen Blutserum zerrieben. Wird das Extrakt in solcher Menge hinzugefügt, daß es das anti-autolytische Prinzip des normalen Serums absorbiert, so unterliegt der Ueberschuß den autolytischen Veränderungen und wirkt präzipitierend. Aber es sind dazu erhebliche

Mengen erforderlich, und zwar für das präparierte Extrakt mehr als das gleiche Volumen; ist die Menge im Vergleiche zu dem Ergebnisse für das Distomatoseserum geringer, so bilden die. Zelleiweißkörper mit dem normalen Serum eine Mischung, welche der gewöhnlichen autolytischen Veränderung nicht mehr unterliegt.

Man kann leicht voraussehen, daß der Präzipitationsversuch mittels Hinzufügung von Distomatoseserum negativ ausfallen muß; in der Tat geschieht dies auch, da die Mengen und die Dauer des Kontaktes verschieden sind.

Auch der Verdünnungsversuch liefert ein negatives Resultat. Man konnte denken, daß bei der Verringerung des Konzentrationsgrades des antiautolytischen Prinzips den Eiweißkörpern des Extraktes die Hemmung für ihre weitere Veränderung fehlt. Mischungen von Leberextrakt mit normalem Serum vom Lamm, Kaninchen und Ochsen in verschiedenem Verhältnisse, die im Augenblicke hergestellt und mehrere Tage im Brutschranke gehalten waren, zeigten bei wachsenden Verdünnungen niemals eine Neigung zur Präzipitation. Die Hemmung ist beständig.

Man muß sogar auf Grund verschiedener Tatsachen annehmen, daß die Eiweißkörper der Zelle mit denen des Serums wahre Verbindungen eingehen und zwar in der Weise, daß dadurch die fundamentalen Eigenschaften der beiden Komponenten verändert werden.

Bei der Dialyse konnte man beobachten, daß, während Serum und Extrakt getrennt ein starkes Präzipitat geben, bei ihrer Vereinigung die Flüssigkeit nur durch ein unbedeutendes Präzipitat getrübt wird. Ich habe auch bei der fraktionierten Präzipitation mittels Ammoniumsulfat gesehen, daß, während das Extrakt allein schon bei $^1/_5$ seiner Sättigung ein starkes Präzipitat ergibt, die Mischung mit Serum nicht reagiert, selbst wenn sie fast mehr als zu $^1/_3$ gesättigt ist, und daß erst bei einem Sättigungsgrade von $^1/_2$ ein reichliches Präzipitat erscheint. Auch in der Wärme entsprechen die Fraktionen des Präzipitates der Mischung nicht denjenigen der getrennten Bestandteile. Man kann auch noch hinzufügen, daß, wenn man das Extrakt verunreinigt, gewöhnlich schon nach wenigen Stunden ein reichliches Präzipitat erscheint; bei Gegenwart des Serums vermag die Bakterienvegetation in der Regel nicht diese Wirkung hervorzurufen.

b) Versuche mit autolysierendem Extrakt.

Normales Lamm- und Kaninchenserum werden mit $^1/_5$ autolysierenden Kaninchenleberextraktes gemischt und in den Brutschrank gestellt, ohne daß eine Präzipitation eintritt. Darauf nimmt man in verschiedenen Zwischenräumen 1 ccm der Mischung und vereinigt ihn mit der gleichen Menge Distomatoseserum; nach 2-stündigem bis 3-tägigem Aufenthalte im Brutschranke kann man dann die Präzipitation beobachten.

Tabelle 18.

Dauer des Kontaktes	Kaninchenserum	Lammserum
Sofort	Regelmäß. Präzipit.	Spärlich
Nach 1 Stunde	„ „	Spärlich, langsam
„ 12 Stunden	Spärliches „	Spuren
„ 24 „	„ „	Nichts
„ 3 Tagen	Nichts	„

Bei den verschiedenen, in dieser Hinsicht angestellten Versuchen konnte man folgendes feststellen: Das in größerer Menge hinzugefügte Extrakt kann nach einigen Stunden Kontakt sichtbar gemacht werden, und zwar besser bei frischer Zubereitung, als nach langer Aufbewahrung; in der Temperatur der Umgebung geht die Verbindung erheblich langsamer vor sich; dehnt man den Aufenthalt der Röhrchen im Brutofen nach dem Zusatze des aktiven Serums 2—3 Tage aus, so kann man in den anfangs negativen Röhrchen das Präzipitat auftreten sehen; die verschiedenen Tiere zeigen ein verschiedenes Bindungsvermögen ihres Serums, und zwar das Lamm für das Leberextrakt des Kaninchens ein stärkeres als das Kaninchen; das frisch entnommene Serum gibt die Reaktion länger als das konservierte, und zwar steht diese Erscheinung in Beziehung zu einer von uns bei Gelegenheit der Reaktivierung gemachten Beobachtung.

Daraus geht hervor, daß man bei mittleren Extraktdosen *nur schwer auf ein endgültiges Resultat nach 24 Stunden rechnen kann, wenn es sich darum handelt, das dem normalen Serum hinzugesetzte autolytische Extrakt sichtbar zu machen*, da es sich, wie das native Extrakt, in der Mischung der Reaktion entzieht. Wir können noch nicht mit Sicherheit sagen, welcher Mechanismus dieser Absorption zu Grunde liegt, ob sie nämlich durch eine Veränderung bedingt ist, welche das Extrakt durch die lösende Wirkung des Serums erlitten hat, oder ob sie auf eine Verbindung mit Haptophoren, die im normalen Serum vorkommen, zurückzuführen ist, von denen wir angenommen haben, daß sie als Toxoide bei der Abschwächung des Distomatoseserums zurückbleiben.

Um die Möglichkeit dieser Reaktion unter den natürlichen Resorptionsbedingungen zu untersuchen, habe ich einem Kaninchen eine Leberemulsion intraperitoneal injiziert. Bei 4 Blutproben, die ich in der ersten Woche entnahm, fand ich beim Zusatze von Distomatoseserum einmal eine Andeutung der Reaktion und ein anderes Mal ein beträchtliches Präzipitat. Also auch bei der Resorption innerhalb des Organismus, wo bei dem Verschwinden des Extraktes, abgesehen von dem Serum selbst, auch die Organe mitwirken müssen, gelingt es, das bindende zirkulierende Produkt der Gewebszersetzung nachzuweisen, allerdings immer nur in beschränktem Maße.

Auch an dieser Mischung von normalem Serum und autolysierendem Extrakt habe ich die Wirkung der Verdünnung verschiedenen Grades in isotonischer Lösung untersucht. Das Resultat fiel negativ aus: das normale Serum bewahrt auch bei starker Verdünnung das Vermögen, das autolysierende wie das native Extrakt in Lösung zu halten.

Die enge Verbindung, welche nach unseren bisherigen Erfahrungen zwischen den Eiweißkörpern der Zelle und den Bestandteilen des normalen Serums vorhanden ist, steht aller Wahrscheinlichkeit nach in Beziehung zu der fundamentalen Funktion des Blutplasmas, nämlich nicht nur der mechanischen, sondern auch der chemischen Beförderung der inneren Stoffwechselprodukte mittels Moleküle vom Typus des Hämoglobins zu dienen, welche lösliche Verbindungen eingehen und ein Gleichgewicht zwischen dem Bedarfe und dem Verbrauche je nach den funktionellen Bedürfnissen herstellen. Diese physiologischen „Transportmoleküle“ sind je nach dem Festigkeitsgrade ihrer Verbindungen Schwankungen unterworfen, worauf nach unserer Meinung die Erzeugung der Antikörper bei der Immunität beruht.

c) Versuche mit der Autolysenflüssigkeit nach Erschöpfung der Präzipitation.

Die autolytische Präzipitation des Extraktes stellt sich unter dem Bilde einer fermentativen Erscheinung dar, und man kann daher annehmen, daß nach der Vervollständigung der Wirkung auf die Eiweißkörper in der Flüssigkeit fermentative und beschleunigende Prinzipien zurückbleiben, wie es beim Blute der Fall ist. Diese Prinzipien können bei der Zerstörung der Organe im lebenden Organismus wegen ihrer größeren Diffusionsfähigkeit leichter in den Kreislauf eindringen und sodann die natürlichen Eigenschaften des Serums verändern, von denen wir die präzipitierende betrachten wollen.

Die folgenden Versuche sind mit der Flüssigkeit, die man bei der Leberautolyse erhält, angestellt worden, nachdem man mittels Distomatoseserum festgestellt hatte, daß die Präzipitation aufgehört hatte. Die Reaktion, die man mit Lackmus prüfte, wurde leicht alkalisch gewählt; dies muß man ausdrücklich bemerken, da die Eiweißkörper der Zelle bekanntlich schon bei mäßiger Acidität präzipitiert werden.

Tabelle 19.

Lösungsmittel	Serum	Extrakt	Resultate
Autol. Lammleber 0,8	—	Frische Kaninchenleber 0,4	Präzipit. nach 2 Tagen
Autol. Kaninchenleber 0,8	—		„ „ 2 „
Physiol. Wasser 0,8	—		„ „ 2 „
Autol. Lammleber 0,4	Normales Lamm 0,8	Native Kaninchenleber 0,25	Nichts
Physiol. Wasser 0,4	„ „ 0,8		„
Autol. Kaninchenleber 0,4	„ Kaninchen 0,8		„
Physiol. Wasser 0,4	„ „ 0,8		„
Autol. Lammleber 0,4	„ Lamm 0,8	Autolysier. Lammleber 0,25	„
Physiol. Wasser 0,4	„ „ 0,8		„
Autol. Lammleber 0,4	Distom. Schaf 0,8		Regelm. Präzipit.
Physiol. Wasser 0,4	„ „ 0,8		„ „

Die Autolysenflüssigkeit zeigt also keine merkliche Wirkung, wenn man sie bei den von uns studierten Reaktionen anwendet. Sie beschleunigt nicht die autolytische Präzipitation des natürlichen Extraktes; fügt man sie inaktiven Seris hinzu, so verleiht sie diesen nicht die Wirkung, das native oder das autolysierende Extrakt zu präzipitieren; vereinigt man sie mit dem präzipitierenden Serum, so hemmt sie nicht dessen Eigenschaften.

Als allgemeine Schlußfolgerung dieser ganzen Untersuchungsreihe ergibt sich, daß an der präzipitierenden Wirkung, welche das Serum unserer Tiere erworben hat, nicht die mit dem Serum vermischten Produkte der Zersetzung der kranken Gewebe beteiligt sind, sondern daß es sich um eine immunisierende Reaktion handelt, die von diesen Produkten hervorgerufen ist.

VII. Ueber die Produktion von Anticytopräzipitin. Gründe für das Fehlen der Reaktion bei pathologischen Seris.

Diese Untersuchung ist sowohl vom wissenschaftlichen Gesichtspunkte aus interessant, da sie uns bessere Aufklärung über die Natur der Reaktion gibt, als auch hat sie ein praktisches Interesse, da sie den Ursachen nachforscht, aus welchen man bei verschiedenen Affektionen die präzipitierende Reaktion so selten antrifft.

Zu diesem Zwecke werden nach dem gewöhnlichen Verfahren Kaninchen mit dem Blute eines distomatösen Schafes geimpft und die Injektionen so lange wiederholt, bis man ein Serum erhält, welches eine sehr starke hämolytische und präzipitierende Wirkung auf das Schafblut ausübt. Dieser Behandlung schien das Kaninchen der präzipitierenden Wirkung des Distomatoseserums gegenüber sehr empfindlich zu sein, da das Leberextrakt dieses Tieres sich zeigte.

Bei diesen Versuchen muß man das Vorkommen des gewöhnlichen Hämopräzipitins in Betracht ziehen: 1 ccm Distomatoseserum + 0,5 ccm Serum des behandelten Kaninchens lieferte ein Sediment, welches $^{1}/_{8}$ bis $^{1}/_{4}$ der Höhe des Röhrchens einnahm. Wir haben zunächst dieses Präzipitin absorbieren lassen und haben dann zu der abgegossenen Flüssigkeit das Extrakt hinzugefügt. Andere Kaninchen ließen dieses Hämopräzipitin nicht erkennen. Man muß hier auch eventuell die durch den Zusatz der fremden Sera bedingte hemmende Wirkung in Betracht ziehen.

Die untersuchten Sera stammten von verschiedenen Kaninchen, die verschiedene Zeiten, 1—6 Monate, behandelt waren; wir wollen einige mit dem Blute von zwei an Lebercirrhose leidenden Menschen angestellte Versuche hinzufügen, wobei wir mit dem Leberextrakt keine Reaktion erhielten.

Tabelle 20.

Distomatoseserum 1,0 ccm + Serum von		Extrakt		Präzipitat
1 Monat vacciniertes Kaninchen	0,20	Kaninchenleber	0,20	Wie Kontrolle
1 „ „ „	0,50	„	0,20	„ „
6 Monate „ „	0,20	„	0,20	„ „
6 „ „ „	0,50	„	0,20	„ „
Mensch mit Lebercirrhose I	0,25	„	0,20	„ „
„ „ „ II	0,25	„	0,20	Spärliches Präzipitat

Abgesehen davon, daß bei einem der mit menschlichem Materiale angestellten Versuche eine hemmende Wirkung angedeutet ist, geben viele andere Experimente keinen Anhalt weder hinsichtlich der Dose noch der Zeit dafür, daß es unserem Cytopräzipitin bei der Vaccination gelingt, einen neutralisierenden Antikörper zu bilden.

Eine Erklärung hierfür können wir wohl finden, wenn wir an unsere Ausführungen über den Wirkungsmechanismus des Autocytopräzipitins erinnern; außerdem könnte die eben konstatierte Tatsache eine deutliche Bestätigung der vorher geäußerten Vorstellung sein. Die zur Bildung eines Antikörpers erforderliche Bedingung besteht darin, daß die Impfsubstanz im Organismus den entsprechenden Rezeptor findet. Nun muß dieser Rezeptor im lebenden Kaninchen fehlen, weil wir festgestellt haben, daß das Präzipitin die in unversehrtem nativen Zustande befindlichen Eiweißkörper der Zelle nicht angreift. Hierdurch erklärt sich auch, ohne daß wir einen anderen Antikörper zu Hilfe zu nehmen brauchen, weshalb die Schafe so lange Zeit hindurch in ihrem Serum ein so energisches Agens ungestraft beherbergen können: Dasselbe kann eben nur mit pathologischen Eiweißkörpern in Beziehung treten.

Auch bei der Erforschung der gewöhnlichen Präzipitine haben die Antipräzipitine eine Rolle gespielt. Kraus und Eisenberg, Schütze gewannen vom Kaninchen das Präzipitin für die Ziegenmilch; übertrugen sie nun dieses Kaninchenserum wieder auf die Ziege, so erhielten sie

ein ausgesprochenes Antipräzipitin. In diesem Falle besaß die geimpfte Ziege in ihrem Organismus den Rezeptor, der für das gegen sie selbst gerichtete Präzipitin empfänglich war. Bermbach dagegen übertrug das Serum des mit Menschen- und Ziegenmaterial behandelten Kaninchens auf das Kaninchen selbst, erhielt aber ein negatives Resultat (hier kann man den Einwurf machen, daß die Behandlung des Kaninchens mit dem Präzipitin von einer zu kurzen Dauer war).

Diese Versuche über das Anticytopräzipitin veranlassen uns, in Form eines Ueberblickes über das bisher Gesagte die Schicksale zu schildern, denen die Agentien der von uns studierten Reaktion im Organismus entgegengehen; hieraus läßt sich dann schließen, unter welchen Umständen man ihr Vorhandensein im pathologischen Blute erwarten kann.

1) Das Produkt der Gewebszersetzung kann in den Kreislauf in einer Form eindringen, welche nicht mehr den Charakter eines Antigens dem studierten Antikörper gegenüber hat; bei unserem Serum sahen wir diese Erscheinung eintreten, wenn das Organ sich entweder in einer zu frühen oder in einer zu späten Periode der Zersetzung befand. Es ist aber durchaus nicht ausgeschlossen, daß auch diese Stadien ihre entsprechenden Antikörper haben können, da auch die verschiedenen durch Wärme und chemische Agentien veränderten Eiweißkörper im stande sind, Antikörper zu erzeugen. Es wäre in dieser Beziehung nützlich, durch Impfung von Tieren mit Extrakten in verschiedener Phase der Autolyse Versuche anzustellen. Der Versuch ist nicht leicht, da sich in derselben Phase der Autolyse die Eiweißkörper in verschiedenen Stadien der Zersetzung befinden und nach ihrer Injektion in den Organismus weitere Zersetzungsgrade erreichen können.

2) Das Produkt der Gewebszersetzung kann sich besonders am Anfange der Krankheit im Kreislaufe als solches finden; in diesem Falle würde das von dem Kranken stammende Serum als Reagens nicht mehr das Extrakt, sondern das präzipitierende Serum haben. Die Möglichkeit dieser Reaktion haben wir sowohl in vitro als in vivo existieren sehen; es besteht aber nur geringe Hoffnung, diese Reaktion in der Praxis als biologisches Mittel zur Lokalisationsdiagnose zu verwenden, da es vor allen Dingen sehr schwierig ist, für jedes Organ und für jede Phase seiner Umwandlung einen entsprechenden Antikörper zu erhalten, und weil ferner das Antigen in der Mischung mit zirkulierendem Serum in kurzer Zeit die Reaktionsfähigkeit verliert.

3) Der Organismus kann unfähig sein, auf den besonderen in den Kreislauf eingedrungenen Zelleiweißkörper mit der Bildung von Präzipitin zu reagieren; denn wir wissen ja, auf wie verschiedene Art und Weise die Tiere mit der Bildung von heterologen und noch mehr von homologen Präzipitinen reagieren können.

Unser Schaf zeigte eine Reaktion nur auf eine Phase der Eiweißzersetzung; auf die anderen vermochte es wohl aus biologischer Unfähigkeit nicht zu reagieren, aber man darf hier auch nicht die mechanischen Bedingungen unberücksichtigt lassen. In der Tat müssen im Organismus die nativen Eiweißkörper in dem Zeitraume, der zwischen der Zersetzung im Inneren der Zelle des Organes und ihrem Eindringen in den Kreislauf liegt, unvermeidlich der Autolyse verfallen und so als solche nicht in Aktion treten; sind andererseits die Proteine im Inneren des Organes präzipitiert, so müssen sie sich wieder auflösen und damit noch eine tiefe Molekularveränderung erleiden. Demnach scheint die autolysierende Phase am günstigsten für eine Autovaccination zu sein.

4) Der gebildete zirkulierende Antikörper kann durch das Antigen neutralisiert werden, welches das beteiligte Organ fortwährend in den Kreislauf ergießt. Diese Möglichkeit, die man sehr beachten muß, scheint bei unseren Versuchen nicht durch die Löslichkeit des spontanen Präzipitats des Distomatoseserums begünstigt zu sein; eine andere Art von Versuchen, nämlich die über die Ablenkung des Komplements, zeigt uns, daß in einem solchen zirkulierenden Serum in der Tat gleichzeitig Antigen und Antikörper vorhanden sind.

5) Das gebildete Präzipitin kann seinerseits ein Antipräzipitin im Organismus selbst erzeugen. Wenn man auch unter natürlichen Bedingungen die Möglichkeit dieser Bildung nicht ausschließen kann, so findet sie doch durch die Versuche, die man mit künstlicher Vaccination mit dem Cytopräzipitin an einem anderen Tiere angestellt hat, keine Stütze.

6) Was die Mißerfolge anbetrifft, so muß man sich vor Augen halten, welche Schwierigkeiten es macht, die günstigsten Versuchsbedingungen festzustellen; diese Schwierigkeiten zeigen sich immer beträchtlicher im weiteren Verlaufe der Untersuchungen und zwingen oft, den früheren Ergebnissen eine verschiedene Bedeutung zu geben. Insonderheit ist es schwierig, die der natürlichen Krankheit genau entsprechende Modifikation der Organbestandteile in der Reaktion einzuführen und das Alter dieser äußerst zersetzlichen Reagentien, die gehörige Menge und die Art und Zeit ihrer Vereinigung festzustellen und besonders bei so zusammengesetzten Stoffen die Bedeutung zu unterscheiden, welche die verschiedenen Bestandteile bei dem Zustandebringen und der Störung der Reaktion haben.

VII. Ueber die Bindung des Komplements.

Um die vergleichende Analyse der verschiedenen Präzipitine immer eingehender zu machen, mußte man die Art von Untersuchungen heranziehen, welche durch Gengou angeregt waren. Dieser hatte nämlich beobachtet, daß das Präzipitat, welches sich bei den Hämopräzipitinen bildet, für das Komplement sensibilisiert wird, welches auf diese Weise der umgebenden Flüssigkeit entzogen wird.

Zur Zeit hat dieses Studium, das durch eine Reihe von Forschern (Moreschi, Neisser und Sachs, Friedberger, Wassermann und Bruck u. A.) eifrig betrieben wird, gezeigt, daß man mit dieser Reaktion eine viel höhere Empfindlichkeit erreichen kann, als mit der Bildung des Präzipitates; sie wird daher mit Erfolg für die verschiedenen spezifischen Diagnosen angewandt. Um diese Untersuchungen anzustellen, habe ich nach dem gewöhnlichen Verfahren zunächst Distomatoseserum und, um auch die unlöslichen Teile an der Reaktion teilnehmen zu lassen, die vollkommene Emulsion des Organes und schließlich das Komplement vom Meerschweinchen miteinander in Kontakt gebracht. Nach einstündigem Kontakte im Brutofen wurden die Blutkörperchen vom Schaf und Ochsen, die mit dem entsprechenden Ambozeptor geladen waren, 5 ccm auf jedes Röhrchen, hinzugefügt und der Wirkung der Brutschranktemperatur noch eine weitere Stunde lang überlassen.

1) Absorption durch das Distomatoseserum allein.

Es ist der eben beschriebene Versuch, nur wurde keine Emulsion hinzugefügt.

Tabelle 21.

Serum vom Schaf		Serum vom Meerschweinchen	Hämolyse
Distomatös	0,10	0,05	Teilweise
"	0,25	0,05	Spuren
"	0,50	0,05	"
"	1,00	0,05	"
Normal	0,25	0,05	Fast total
"	0,50	0,05	" "
Kontrolle		0,05	" "

Im Gegensatze zu dem normalen Serum absorbiert das Distomatoseserum allein das Komplement in ausgesprochenem Maße, als ob es eine Mischung von Antikörper und Antigen wäre. Das untersuchte Serum war frei von jedem spontanen Präzipitat; die beiden Prinzipien müssen daher in gelöstem Zustande in ihm enthalten sein.

Ist diese Absorption nicht durch das gleichzeitige Vorkommen von Gewebspräzipitogen und Präzipitin im zirkulierenden Serum bedingt, so ist es andererseits schwierig, sie auf die Gegenwart eines für die Erythrocyten desselben Schafes hämolytischen Ambozeptors zu beziehen, der sich, wie wir seit den Untersuchungen v. Dungerns wissen, jedesmal dann bildet, wenn man mit Gewebszellen impft. In weiteren Untersuchungen wollen wir diese Frage aufzuklären versuchen, und zwar in Verbindung mit dem Zustande des Komplements der distomatösen Tiere, ob dasselbe nämlich auch im lebenden Organismus von dem Serum absorbiert wird.

2) Absorption durch das Organextrakt allein.

Die in der folgenden Tabelle verwandten Organe rühren von einem normalen Kaninchen her; einige Versuche sind mit dem gleichen Resultate auch mit den Organen vom Hunde und Lamme wiederholt worden. Die Dose der Organemulsion betrug 0,20, die des Komplements 0,05.

Tabelle 22.

Organ	Absorption
Leber	Keine
Nieren	Mäßige
Milz	Keine
Nebennieren	"
Pankreas	Sehr starke
Hoden	Mäßige
Lunge	Keine
Herz	"
Schilddrüse	"
Gehirn	Starke
Muskeln	Keine

Wie es schon bekannt ist (v. Dungern, Hoke, Michaelis und Fleischmann), besitzen die normalen Organe schon an sich die Fähigkeit, das Komplement zu absorbieren, wie es sich in unseren Versuchen für das Pankreas, das Gehirn, die Niere und den Hoden deutlich zeigt; bei der Leber war das Resultat negativ. Besondere Aufmerksamkeit verdient das Stadium der Frische der Organe, weil, wie ich es mehrmals beim Gehirn habe zeigen können, dieses Vermögen bei der Konservierung rasch verschwindet.

3) Absorption der Vereinigung von Serum und Organextrakt.

Tabelle 23.

Distomatoseserum		Emulsion		Meerschweinchenserum	Hämolyse
Natürliches	0,25	—		0,05	Teilweise
„	0,25	Leber	0,10	0,05	Spuren
„	0,25	„	0,10	0,10	Teilweise
„	0,25	„	0,20	0,10	„
Bei 58°	0,25	„	0,20	0,05	Fast totale
„ 58°	0,50	„	0,20	0,05	„ „
Natürliches	0,25	Niere	0,20	0,05	Ger. Spuren
Kontrolle		—		0,05	Totale

Es ist also bewiesen, daß zwischen Distomatoseserum und Leberextrakt in der Tat eine Reaktion stattfindet, denn bei ihrer Vereinigung ist die Bindung des Komplements stärker als beim Serum allein.

Es scheint auch, daß die Temperatur von 58° ebenso wie die präzipitierende Wirkung, so auch das Absorptionsvermögen für das Komplement aufhebt; während es also bezüglich der Hämopräzipitine möglich ist, das zu untersuchende Serum mittels Erwärmung für die Hämolyse zu inaktivieren, würde man in diesem Falle durch dieses Verfahren auch das Absorptionsvermögen angreifen. Die Verbindung des Präzipitinoids mit dem Organextrakte, welche, wie wir gesehen haben, gegen die Neutralisierung der präzipitierenden Wirkung tätig bleibt, scheint zu dieser Absorption nicht mehr geeignet zu sein. Anscheinend besteht nicht immer ein genauer Parallelismus zwischen der präzipitierenden, der bindenden und der Komplement absorbierenden Wirkung, auch wenn man verschiedene Organe in verschiedenem Frischezustande untersucht.

Abgesehen von diesen Daten, die nur wissenschaftlichen Wert haben, scheint die Reaktion mit der Bindung des Komplements, wie wir schon bei ihrer Anwendung auf Lyssamaterial gefolgert haben, namentlich in Versuchen mit Geweben, nicht zu jener weiten praktischen Verwendung bestimmt zu sein, wie sie es anfangs versprach. Die Schwankungen bei der Reaktion zwischen Serum und Extrakt, sowie das Absorptionsvermögen des Serums und der Organemulsion allein, im Verein mit der fundamentalen Tatsache, daß die Fixation des Komplements ein allgemeines Zeichen für das Vorhandensein irgend einer immunisierenden Verbindung ist, alle diese Umstände bewirken, daß man bei der praktischen Anwendung dieser Probe nicht ein eindeutiges Ergebnis, sondern Schwankungen im Grade erhält, deren individuelle Bedeutung schwer zu taxieren ist.

Zusammenfassung.

1) Die an Leberdistomatose leidenden Ovinen zeigen in ihrem Serum ein hohes und dauerhaftes Präzipitationsvermögen für das Leberextrakt. Das Serum reagiert nicht mit dem Extrakt in jeder beliebigen Form, sondern nur dann, wenn es sich in einem intermediären Stadium seiner autolytischen Umwandlung befindet, während es sich dem nativen, eben hergestellten und ebenso demjenigen Extrakt gegenüber, das sich in vorgeschrittener Autolyse befindet, indifferent verhält. Es handelt sich

also um ein spezifisches Präzipitin des Zellproteidmoleküls, das eine besondere Stufe seiner Umwandlung erreicht hat.

2) Hinsichtlich der anderen Versuchsbedingungen sei folgendes bemerkt: Das Extrakt muß in aseptischer Weise hergestellt sein, da die gewöhnlichen Desinfektionsmittel schädlich wirken. Zwischen dem Extrakt und dem Serum muß ein bestimmtes Verhältnis, im Durchschnitte 1 : 5, bestehen, da ein Ueberschuß der beiden Reagentien schadet und durch teilweise Absorption die Wirkung aufgehoben wird. Das Serum ist vollkommener elektiver Absorption fähig. Die Versuche können mittels Mischung und Ueberschichtung je nach der Entwickelungsphase, in der sich das Extrakt befindet, angestellt werden. Die Temperatur befördert die Reaktion; im Brutschranke unter günstigen Bedingungen zeigt sich die Präzipitation innerhalb der ersten 2 Stunden und wird bis zu 24 Stunden in der gewöhnlichen Umgebungstemperatur vollkommen. Die zu starke Konzentration des Reaktionsmittels hält einen Teil des Präzipitats in Lösung.

3) Bezüglich der Spezifizität der Reaktion ergibt sich, daß die Präzipitation für das Leberextrakt verschiedener Tierspecies konstant ist. Aber jede von ihnen besitzt teilweise ein besonderes Präzipitin. Das normale Serum präzipitiert nicht merklich das Organextrakt der eigenen oder, von seltenen Ausnahmen abgesehen, das einer anderen Species. Von den wichtigen Organen desselben Tieres präzipitiert das untersuchte Distomatoseserum nächst der Leber etwas spärlicher und unregelmäßig nur das Extrakt der Nieren; Nieren und Leber haben aber ein eigenes Präzipitin.

4) Bezüglich der abschwächenden Agentien beobachtet man, daß das Serum bei 60° rasch und in der Umgebungstemperatur ziemlich langsam inaktiviert, nur mit Schwierigkeiten reaktiviert wird und bei der Austrocknung schnell seine Wirkung verliert. Das Leberextrakt wird bei der Temperatur seiner Präzipitation zwischen 50 und 55° inaktiviert und verliert auch bei der Austrocknung seine Wirkung. Sowohl von dem abgeschwächten Serum als auch von dem abgeschwächten Extrakt bleiben Prinzipien übrig, die als bindende Toxoide funktionieren. Die Antiseptika verändern die autolytische Präzipitation des Extraktes im Vergleiche zu der aseptischen; das Toluol hemmt bei einem Kontakt von wenigen Stunden nicht die Reaktion, verlängert man aber den Kontakt, so wird sehr rasch das Extrakt und dann das Serum inaktiviert.

5) Bei den Versuchen über die Löslichkeit der verschiedenen Präzipitate des Distomatoseserums, nämlich des autolytischen, des spontan und durch Präzipitin entstandenen Präzipitates, findet man, daß alle diese den verschiedenen und energischsten Lösungsmitteln gegenüber sehr resistent und daher dem Blutfibrin vergleichbar sind. Aus der völligen Uebereinstimmung im Verhalten der durch Autolyse und durch Präzipitin entstandenen Präzipitate kann man schließen, daß das Präzipitin als Katalysator wirkt und die begonnene autolytische Präzipitation des Extraktes beschleunigt. Das dritte Präzipitat scheint anderer Natur und also nicht auf ein Zusammentreffen von Antigen und Antikörper im lebenden Organismus zurückzuführen zu sein.

6) Mischt man mit dem Serum normaler Tiere Organextrakt, das sich in verschiedener Umwandlung befindet, so beobachtet man, daß das normale Serum die Fähigkeit hat, die Autolyse aufzuhalten und mit den Zellproteinen innige Verbindungen einzugehen; hierdurch lassen sie sich beim Zusatze von präzipitierendem Serum schwer erkennen und

außerdem wird die Art und Weise der Reaktion der Mischung den physikalischen und chemischen Reagentien gegenüber verändert, Eigenschaften, die für die Frage des chemischen Transports vermöge des Blutplasmas im inneren Stoffwechsel von Bedeutung sind. Die nach der völligen Autolyse entnommene Flüssigkeit zeigt keinen Einfluß auf die Reaktionen mit normalem und Distomatoseserum, noch auf die Umwandlungen des Extraktes.

7) Selbst durch lange Zeit hindurch ausgedehnte Vaccination des Kaninchens mit dem präzipitierenden Serum gelingt es nicht, das betreffende Anticytopräzipitin zu erhalten; dies wird durch ein Fehlen des Rezeptors erklärt, da das Präzipitin nicht die physiologischen Proteine des Organismus angreift, sondern nur diejenigen, bei denen die Umwandlung schon begonnen hat. Es werden verschiedene Gründe erörtert, welche die Seltenheit der autopräzipitierenden Reaktion in den pathologischen Seris erklären sollen: Verlust des Antigencharakters der resorbierten Zellproteide, Bindung des Antigens durch das normale Serum, Reaktionsunempfindlichkeit des Organismus, Neutralisierung des Präzipitins im Kreislaufe durch das Antigen der zersetzten Gewebe u. s. w.

8) Bei den Versuchen über die Komplementbindung findet man, daß das Distomatoseserum allein in beträchtlichem Maße diese Bindung vollzieht, wie ja auch die Emulsion verschiedener normaler Organe schon an und für sich bindet; die Vereinigung dagegen von Distomatoseserum mit dem Leberextrakt macht die Bindung noch ausgesprochener, als es bei den Bestandteilen allein der Fall ist, also ein Beweis für ihre Verbindung.

Was nun das Ergebnis dieser und der vorhergehenden Arbeit anbetrifft, so sind die Autocytopräzipitine vollkommen individualisierte Körper. Sie erscheinen, wenn auch nicht häufig, bei spontanen und experimentellen Krankheiten des Menschen und der Tiere, und zwar in flüchtiger und prämortaler, wie in dauerhafter und in mit befriedigenden Lebensbedingungen vereinbarer Form. Ihre Eigenschaften teilen sie großenteils mit den Hämo- und Bakteriopräzipitinen, teilweise besitzen sie aber auch solche, durch die sie sich von den anderen Immunkörpern unterscheiden. Sie stellen Produkte einer inneren immunisatorischen Reaktion gegen die Resorption der in Zersetzung begriffenen Zellproteine dar; sie besitzen die hochinteressante Eigenschaft, nur gegen eine bestimmte Phase dieser Zersetzung spezifisch zu reagieren, und sind so als Mittel der biologischen Untersuchung geeignet, mehr Licht in die Kenntnis der Zellbestandteile und ihre Umwandlung in den verschiedenen Stoffwechselphasen zu bringen. Nicht minder muß ihre Bedeutung nicht nur in den pathologischen, sondern auch in den physiologischen Erscheinungen sein, und z. B. nach den Ergebnissen unserer Versuche ist es nicht mehr ungerechtfertigt, die gewöhnliche Blutgerinnung als eine autocytopräzipitierende Reaktion zu studieren, welche gegen eine bestimmte Phase der Zersetzung der hinfälligsten Elemente des Blutes gerichtet ist.

Literatur.

Zusammenfassende Mitteilung, der Akademie der Fisiocritici zu Siena i. d. Sitzung vom 26. Mai 1906 vorgelegt.

Baer, Bedeutung des Serums für die Autolyse. (Verhandl. d. Kongr. f. inn. Medizin. 1905.)

Bermbach, Ueber die Präzipitine und Antipräzipitine. (Pflügers Arch. 1905.)

Centanni, Ueber die Autocytopräzipitine und über eine allgemeine Form derselben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXV. 1903. p. 91.) — Ueber die Produktion von anti-

autolytischen Substanzen [Zymostasen]. (Rif. med. Vol. IV. 1902. p. 20.) — Ueber die Diagnose der Wut mittels Komplementbindung. (Accad. dei Fisiocritici di Siena, seduta 2 luglio 1906.)
Eisenberg, Untersuchung über die Fällung von Eiweißkörpern durch spezifische Präzipitine. (Rozpr. akad. um. Krakau. 1902.)
v. Fürth, Ueber die Eiweißkörper des Muskelplasmas. (Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. XXXVI. 1895. p. 231.)
Hesse und Römer, Experimentelle Untersuchungen über Antikörper gegen Netzhautelemente. (Arch. f. Augenheilk. Bd. L. 1906. Heft 1 und 2.)
Michaelis, Referat im biochem. Centralbl. Bd. II. 1904. p. 248.
Michaelis und Fleischmann, Ueber die Erzeugung von Antikörpern durch Injektion artfremder Leberzellen. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LVIII. 1906. p. 463.)
Olivi, Ueber das Verhalten des präzipitogenen Antigens in der autolytischen Leber. (Accad. dei Fisiocritici di Siena, seduta 2 luglio 1906.)
Pohl, Ueber Organeiweiß. [I. Mitt.] (Hofmeisters Beitr. Bd. VII. 1906. p. 381.)
Schütze, Zur Kenntnis der Präzipitine. (Intern. Beitr. z. inn. Med. Bd. II. 1902.)

Biologische Wirkungen des antipneumonischen Serums.

[Institut für allgemeine Pathologie der königl. Universität zu Bologna (Direktor: Prof. G. Tizzoni).]

Von Dr. **Luigi Panichi**, Assistenten.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Berlin.

Mit 7 Figuren.

Ueber die bakterizide und antitoxische Wirkung des von Prof. G. Tizzoni in diesem Laboratorium hergestellten antipneumonischen Serums ist von meinem verehrten Lehrer und mir selbst in früheren Arbeiten berichtet worden (1).

Aber von den biologischen Wirkungen, welche ein Tierserum während der antipneumonischen Vaccination erwerben kann, war noch die präzipitierende und agglutinierende zu untersuchen. Diese Untersuchung war um so mehr am Platze, da bis heute noch niemand das Vorkommen eines Präzipitins im Serum eines mit Pneumokokken behafteten (tierischen oder menschlichen) Individuums nachgewiesen hat und die Beobachtungen über die Pneumokokkenagglutinine noch sehr lückenhaft sind. Dieser Mangel soll nach Kindborg (2) dadurch bedingt sein, daß die diesbezüglichen Untersuchungen hauptsächlich an Menschen und nicht an Laboratoriumstieren angestellt worden sind. Selbstverständlich fehlen in den Jahren, in denen das Agglutinationsphänomen bekannt und mit so vielem wissenschaftlichen und praktischen Interesse studiert wurde, Beobachtungen über das Serum von Tieren nicht ganz und gar. Bevor Durham die Entdeckung des Phänomens an Cholera- und Coli-Kulturen in der Royal Society in London vorgeführt und Gruber es in demselben Jahre (1896) auf dem Kongreß für innere Medizin zu Wiesbaden (3) mitgeteilt hatte, war schon zuerst von Metschnikoff (4) beobachtet worden, daß der im Serum vaccinierter Tiere (Kaninchen) kultivierte Fränkelsche Diplococcus in Haufen von Kettenkokken wuchs, wie es schon Charrin und Roger (5) im Jahre 1889 bei dem B. pyocyaneus gesehen hatten. Ihre Beobachtung wurde von Issaeff (6), von Mosny, Kruse und Pansini, Washbourn (7) und von Ark-

harow (8) bestätigt; letzterer studierte die Erscheinung auch am Serum von Tieren (Kaninchen), konnte aber nur wenig Neues hinzufügen. Die Kenntnisse hierüber wurden auch nicht vermehrt, als Bezançon und Griffon (9) außer am Tiere auch Untersuchungen mit menschlichem Serum anstellten. Hierbei stellten sie (und mit ihnen auch Widal [10]) ein Agglutinationsvermögen fest, welches so gering war, daß es sich nur am unverdünnten Serum nachweisen ließ; dieser Umstand hat auch wahrscheinlich dazu beigetragen, das Interesse für die Fortführung der Untersuchungen zu vermindern, die sie im Jahre 1900 (11) angestellt hatten, obgleich schon im Jahre 1897 Pane (12) beobachtet hatte, daß das Aussäen von Pneumokokken in das Serum von geimpften Tieren nicht immer dieselben Wirkungen zeigt; denn bald veranlaßt es die Bildung einer weißlichgrauen dünnen und zarten Haut am Grunde des das Serum enthaltenden Röhrchens (das Serum selbst bleibt klar), bald läßt es kleine Flocken entstehen, die sich als ein beträchtlicher Bodensatz ablagern. In dieser Publikation führt Pane noch andere Eigentümlichkeiten dieser Erscheinung an, die er bei verschiedenen geimpften Tieren (Kaninchen, Kuh, Esel) nachgewiesen hat; so konnte er beobachten, daß der Esel auch ohne irgendwelche Vorbehandlung ein Agglutinationsvermögen dem Pneumococcus gegenüber besitzt. Unsere Kenntnisse über die verschiedene Art und Weise des Auftretens der Erscheinung wurden im Jahre 1900 (11) durch die Versuche von Bezançon und Griffon vermehrt, die sie sowohl an Kaninchen und Hunden, als auch am Menschen anstellten; auf letzteren bezogen sich auch die Untersuchungen von Silvestrini und Baduel (13), von Landi, Cionini (14), Daddi, Pesci (15), von Stefanelli (16), Gargano und Fattori (17), Jehle (18) und Huber (19). Letzterer sah auch, daß man vom immunisierten Pferde mit Leichtigkeit ein Serum mit hohem Agglutinationsvermögen erhalten kann.

Fügt man nun zu dieser großen Anzahl von Untersuchungen noch diejenigen, die Neufeld (20) am Menschen und am Tiere und Centanni (21) und Maurizio Foà (22) in vitro angestellt haben, so muß man sich über die vielen Lücken wundern, die sich noch beim Studium dieser Erscheinung zeigen.

Beim Menschen ist oft der Zeitpunkt ihres Auftretens und ihres Verschwindens untersucht worden, wie stark man die Verdünnung machen kann, bevor sie verschwindet, und schließlich welche physikalischen und chemischen Eigenschaften das Agglutinin besitzt. Dieselben Untersuchungen wurden für die Pneumokokkenagglutinine am Tiere angestellt, und außerdem wies man an ihm nach, daß dieses Agglutinationsvermögen nicht dem Grade der Immunität gegenüber dem Pneumococcus direkt proportional war, was auch mit den Beobachtungen an anderen Keimen übereinstimmte.

Aus diesem Grunde, durch seine beschränkte diagnostische Bedeutung in der Klinik, und da ferner die Untersuchungsbedingungen an den kleinen Laboratoriumstieren (Kaninchen, Meerschweinchen) — großer Tiere haben sich die Forscher selten bedient — nicht gerade bequem sind, weil man bei ihnen nur wenige (6—10) und kleine Blutentziehungen vornehmen kann, sind meiner Meinung nach eingehendere Studien über diesen Gegenstand unterblieben.

Die günstige Gelegenheit, große Tiere verwenden zu können, ermöglichte es mir dann auch, die bisher noch immer vernachlässigten Unter-

suchungen zu vervollständigen. Als Ziel meiner Untersuchungen habe ich mir gesetzt, die Zeit festzustellen, in der im Blute während der Vaccination die Antikörper aufzutreten beginnen, ferner ihr Verhalten nach aufeinanderfolgenden Verstärkungsinjektionen, und zwar indem ich sie sowohl bei einer Serie von Injektionen als auch in den Zwischenzeiten zwischen den einzelnen Einspritzungen betrachtete.

Ich bemerke hier gleich, daß mir bei dieser Untersuchung die Regelmäßigkeit der Vegetation des Pneumococcus zustatten kam, welche er in „unserer Bouillon“ zeigt. Schon Bezançon und Griffon (23) hielten es für notwendig, dem Mikroorganismus eine gewisse Stabilität zu verleihen, da er in der gewöhnlichen Bouillon leicht abgeschwächt wird und seine Vitalität einbüßt, was für das Studium der Agglutination sehr hinderlich ist. Uebrigens muß man diese Tatsachen genau feststellen, auch wenn man das Serum mit Pneumokokkenkulturen, die sich in Bouillon von gewöhnlicher Zusammensetzung (Pferdefleisch, Wasser, Kochsalz, Pepton, Zucker) entwickelt haben, und mit ihren Filtraten prüft. Ich bin nun folgendermaßen verfahren: Um ein Kulturfiltrat oder eine entwickelte Kultur zu erhalten, übertrage ich den Keim aus einer auf nicht frischem Blute gewachsenen Kultur in Bouillon, und aus Blutagar (aus einer Blutkultur hergestellt) in Bouillon, um eine in der Entwickelung begriffene Kultur zu erhalten, weil es mir nicht möglich war, diese aus einer anderen in Bouillon entwickelten Kultur zu erhalten; auch ging es nicht an, sie direkt aus der Blutkultur herzustellen, da man selbst geringfügige Blutgerinnsel vermeiden wollte.

Ich werde nun zunächst meine Beobachtungen über die Agglutinine und dann die über die Präzipitine wiedergeben; beide betreffen mit dem Pneumococcus geimpfte Tiere, den man sich in unserer Bouillon hat entwickeln lassen.

Das Serum lieferten mir Kaninchen, Schafe und ein Esel.

Agglutinine.

Ueber die bei meinen Versuchen befolgte Technik brauche ich nichts Besonderes zu bemerken, da ich im allgemeinen dem Wege gefolgt bin, den frühere Autoren, die sich schon mit dieser Frage beschäftigt haben, gegangen sind; ich werde mich nur darauf beschränken, die Disposition meiner Versuche anzugeben.

Hinsichtlich des niedrigen Titers, der fast von allen bei der Pneumokokkenagglutination gefunden ist, habe ich als Parallele zu den Versuchen an der entwickelten Kultur Versuche an der in der Entwickelung begriffenen hinzugefügt. Denn wie ja schon Neufeld (24) gezeigt hatte, fehlt das Phänomen niemals an der sich entwickelnden Kultur, auch wenn das Serum ein so schwaches Agglutinationsvermögen besitzt, daß es an der entwickelten Kultur keine Reaktion auslöst. Ich muß hier gleich bemerken, daß ich bei der Verfolgung eines solchen Zieles nicht mehr den wenn auch berechtigten Vorzug berücksichtigen konnte, den die deutsche Schule (25) der Verwendung von Keimen gibt, die sich auf Agar entwickelt haben und dann in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt sind; hierdurch will man nämlich die Uebelstände vermeiden, die sich leicht bei Kulturen einstellen, welche sich in flüssigen Medien (denen wieder die Franzosen den Vorrang geben) entwickelt haben.

Da man bei dieser Versuchsanordnung zahlreiche Verdünnungen

verschiedenen Grades und verschiedener Herstellung miteinander vergleichen mußte, so ergab sich auch die Notwendigkeit, ein bequemes und schnelles Untersuchungsmittel zu besitzen. Für eine solche Prüfung wäre die mikroskopische Beobachtung nicht geeignet gewesen; ich habe daher die makroskopische Prüfung der Reaktion vorgezogen; Lupe und Mikroskop wandte ich nur dann an, wenn es sich darum handelte, irgend einen Zweifel zu beseitigen.

Das Serum und seine Verdünnungen (in Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung), gleichgültig welchen Grades, wurden zu einer sich entwickelnden oder schon entwickelten Kultur hinzugefügt, und zwar so, daß das Gesamtvolumen der auf jedes Röhrchen verteilten Flüssigkeit 2 ccm nicht überstieg; diese Röhrchen durften nicht zu weit sein, damit man eine genügend hohe Flüssigkeitssäule zur Prüfung ihrer Klarheit und Durchsichtigkeit hatte, andererseits durften sie auch nicht zu eng sein, damit die Flüssigkeit im Falle einer Niederschlagsbildung am Boden nicht zu sehr bewegt wurde.

Der Reihe von Röhrchen, welche die verschiedenen Verdünnungen enthielten, wurde ein Kontrollröhrchen mit schon entwickelter oder erst in der Entwickelung begriffener Kultur hinzugefügt, letztere wurde beim Beginne des Versuches durch 2 ccm der Spezialbouillon dargestellt, in die man eine Oese von schon entwickelter Pneumokokkenkultur verimpft hatte.

Ich brauche hier nicht zu erwähnen, daß sich der Pneumococcus in der Bouillon gut entwickeln muß d. h. paarweise oder in getrennten Elementen, ohne Ketten oder Haufen zu bilden. In jedem Falle überzeugten wir uns vor der Vornahme der Agglutinationsprobe von der Güte der Kulturentwickelung.

Um die Reaktion zu erleichtern, wurden die Röhrchen einige Stunden lang (6 Stunden bei der in Entwickelung begriffenen und 12 Stunden bei der schon entwickelten Kultur) im Brutschranke bei 37° gehalten und dann bis zu 24 Stunden in der Temperatur der Umgebung belassen; man beobachtete dann das Ergebnis der Versuche am Ende des ersten Tageskontakt zwischen Serum und Kultur. Die Erfahrung zeigte uns, daß ein früherer Untersuchungstermin für die stärkeren Verdünnungen kein genaues Resultat ergab, da sich bei diesen das Agglutinationsphänomen langsamer als bei den konzentrierteren Lösungen entwickelt.

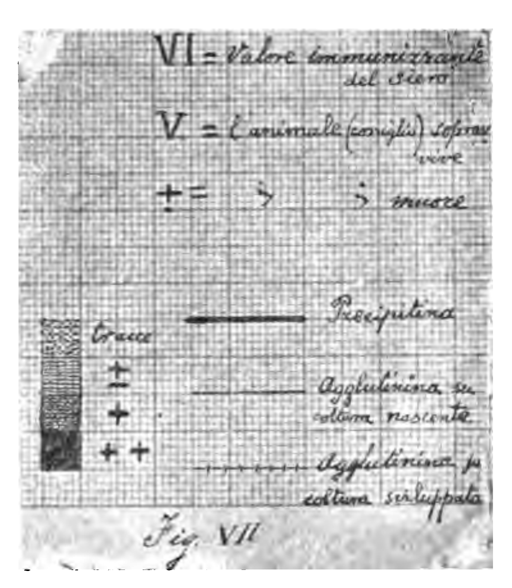
Zur Wertbemessung der Ergebnisse der Agglutinationsversuche haben wir uns mit geringen Abweichungen der Kriterien bedient, welche schon Bezançon und Griffon (26) angegeben haben; diese unterschieden 4 Grade:

1) Niederschlag am Grunde des Röhrchens, bestehend in einer einzigen Membran, einem Häutchen oder einer speckartigen Kuppe; die darüber stehende Flüssigkeit ist klar und durchsichtig.

2) Sediment von pseudomembranösen Bröckeln oder von kleinen Flocken in der sonst klaren Flüssigkeit.

3) Niederschlag von Körnchen von fast staubartiger Beschaffenheit in der sonst klaren Flüssigkeit, welche beim Schütteln ein gleichmäßig trübes Aussehen annimmt.

4) Trübe Flüssigkeit, in der man aber mit der Lupe kleine, fast staubartige Körnchen unterscheiden kann; mit dem Mikroskop sieht man



Haufen von Diplokokken, die mit freien Elementen vermischt sind [unvollkommene Agglutination von Huber[1])].

Um mit Rücksicht auf diese Verschiedenheiten die Daten zusammenzufassen und ihr Studium zu erleichtern, haben wir für die verschiedenen oben erwähnten Grade folgende konventionelle Zeichen eingeführt, und zwar Fig. VII.

Bevor ich an die Auseinandersetzung der beobachteten Tatsachen gehe, möchte ich noch bemerken, daß das Serum der zum Studium verwandten Tiere auch in unverdünntem Zustande kein Agglutinationsvermögen zeigte, wenn man an ihnen noch nicht die Antipneumokokkenimpfung vorgenommen hatte.

Was das Auftreten der Agglutinine bei dem von uns beobachteten Esel anbetrifft, so konstatierte man, daß sie vom 27. Nov. 1903 (dem Tage, an welchem die Vaccination zunächst mit Virus und Serum und alsdann mit Virus allein begonnen wurde) bis zum 3. März 1904 fehlten. Bei der Serumprobe, die zu diesem Zeitpunkte d. h. mehr als 3 Monate nach dem Beginne der Vaccination vorgenommen wurde, konnte man das Vorhandensein von Agglutininen nicht nachweisen, auch wenn man eine Oese Pneumokokkenkultur in 2 ccm Serum brachte; dabei verzögerte dasselbe Serum in der Dosis von 3 ccm den Tod des Kaninchens bis zu $3^1/_2$ Tagen, während das Kontrolltier in 12 Stunden starb.

Eine neue Serumprobe am 20. März 1904 zeigt eine deutliche präzipitierende Wirkung (3. Grades) bei einem Verhältnisse von 1 : 10; es schützt das Kaninchen in einer Dosis von 3 ccm, während das Kontrolltier in 10 Stunden stirbt; es agglutiniert in unverdünntem Zustande unter Bildung von Flocken, die sich in der sonst klaren Flüssigkeit absetzen. Zieht man jedoch in Betracht, daß das normale Eselserum nach den Untersuchungen von Pane (27) agglutinieren kann, und daß erst in dem darauffolgenden Versuche vom 6. April 1904 mit dem Serum unseres Esels sich eine agglutinierende Wirkung bei einem Verhältnis von 1 : 1 (sowohl bei einer sich entwickelnden als auch bei einer schon entwickelten Kultur) zeigte, so wird man erkennen müssen, daß in unserem Falle das Serum des Tieres die agglutinierende Eigenschaft nach einer über mehr als 4 Monate ausgedehnten Behandlung erworben hat.

Daß bei der Produktion von Agglutinin eine Latenzperiode besteht, ist bekannt; dasselbe beobachtet man auch bei anderen Antikörpern (Antitoxinen, Bakteriolysinen). Man weiß auch, daß bei der Kombination

---

1) Wie auch Amy Kindborg in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. LI. 1905. p. 219 erwähnt.

von passiver und aktiver Immunsierung die spezifischen Substanzen, die sich infolge einer Reaktion des Organismus gebildet haben, sich zwar rasch in der Milz und dem Knochenmarke finden, aber erst nach 5 bis 10 Tagen in das Blut übergehen (28). Die Latenzperiode war also in unserem Falle ausnahmsweise lang; aber der Esel, den wir benutzten, war auch alt und wurde trotz guter Ernährung nicht fetter; bei der Produktion des Immunkörpers wirken eben viele Momente mit, welche (abgesehen von der Species) von der Individualität und dem Ernährungszustande des tierischen Organismus abhängen (29).

Bezüglich unseres Esels muß man sagen, daß die Einführung von 10 ccm virulenter Kultur in den Kreislauf, von der 0,2 ccm genügten, um ein Kaninchen in 12 Stunden zu töten, nicht ausreichte, um ein Agglutinin auftreten zu lassen; dies zeigte sich erst, als dem Esel 15 ccm derselben Kultur injiziert worden waren.

Bezüglich des Verhaltens der neuen biologischen Wirksamkeit, welche das Serum des Esels während der Vaccination erworben hatte, läßt die graphische Darstellung in Figur 1 erkennen, daß das Agglutinationsphänomen sowohl bei der in Entwickelung begriffenen als auch bei der schon entwickelten Kultur seine Charaktere bewahrt. Auf die Vaccination reagierte der Esel übrigens nicht mit klinischen Symptomen, abgesehen von unbedeutenden Temperaturschwankungen, die nach einer der wiederholten Verstärkungsinjektionen aufgetreten waren. Wächst nun mit der Vergrößerung der injizierten Virusdosis das Agglutinationsvermögen und hat am 9. Mai 1904 (wo der Esel mit der letzten Verstärkungsinjektion 20 ccm Virus erhalten hat) die Agglutination einen Wert von 5 gegenüber der sich entwickelnden und der schon entwickelten Kultur erreicht (d. h. das Serum agglutiniert in einem Verhältnisse von 1 : 5), so ist für jene die Steigerung in einer andauernden Progression vor sich gegangen, während für diese das Agglutinationsvermögen zunächst ungefähr 17 Tage lang stationär geblieben und dann in einem gleichen Zeitraume rasch angestiegen ist. Die Agglutinationsfähigkeit hält sich in gleichem Grade für beide Kulturen einen Monat hindurch, obgleich die Vaccination in der Zwischenzeit eine neue Verstärkung, mit 25 ccm Virus, erfahren hat. Bei der neuen Serumprobe aber, die am 26. Juni 1904 angestellt wurde, nachdem man die vaccinierende Kulturdosis auf 27 ccm erhöht hatte, war das Agglutinationsvermögen gegenüber der sich entwickelnden Kultur doppelt so stark geworden, während es der schon entwickelten Kultur gegenüber stationär geblieben war.

Dieser Versuch zeigt eine dreifache Heilwirkung des Serums, weil es imstande ist, in einer Dosis von 1 ‰ ccm das Kaninchen zu schützen, während das entsprechende Kontrolltier in 30 Stunden stirbt. Die Ergebnisse zeigen im folgenden quantitative, aber keine qualitativen Veränderungen; das am 8. Nov. 1904 geprüfte Serum zeigt uns eine Vermehrung seiner biologischen Wirkungen; es schützt das Kaninchen in einer Dosis von 1 ‰ ccm vollkommen (während sich vorher bei demselben Kaninchen bei jedem Versuche die Krankheit in mancherlei Symptomen äußerte, z. B. in Gewichtsverminderung, Fieber und motorischen Störungen); ist das Agglutinationsvermögen des Serums gestiegen, denn es hat sich gegenüber der sich entwickelnden Kultur vervierfacht, da es sich auch noch in einem Verhältnisse von 1 : 40 äußert, und der entwickelten Kultur gegenüber hat es sich verdoppelt (eine Verdünnung von 1 : 10 gibt hier noch ein positives Resultat).

Auf diese Periode, welche fast 8 Monate lang (21. März 1904 bis 8. Nov. 1904) dauerte und durch die Zunahme der neuen vom Serum erworbenen Eigenschaften charakterisiert war, folgte eine andere Periode, in welcher neben der Abschwächung der antitoxischen Wirkung des Serums eine Verminderung und ein völliges Aufhören des Agglutinationsvermögens eintrat.

Ich will nicht von den Beziehungen reden, die in dieser zweiten Periode zwischen der Vaccination und dem antitoxischen Vermögen bestanden haben; hierüber ist in einer anderen von Prof. Tizzoni und von mir (30) publizierten Arbeit berichtet worden. Ich halte übrigens die Bemerkung für angebracht, daß das Agglutinationsphänomen gegenüber der entwickelten Kultur rascher als das gegenüber der sich entwickelnden Kultur abgenommen hat, und daß ferner während eines flüchtigen Wiederauftretens des Phänomens (in dem am 2. Mai 1905 untersuchten Serum) dasselbe sich der entwickelten Kultur gegenüber als doppelt so stark gezeigt hat, als das andere bei der in Entwickelung begriffenen Kultur.

Auf Grund der berichteten Tatsachen könnte man in summarischer Weise annehmen, daß die Agglutination gegenüber der sich entwickelnden Kultur fast dasselbe Verhalten zeigt, wie gegenüber der schon entwickelten, und daß ferner die agglutinierende Wirkung einen Wert besäße, der dem antitoxischen direkt proportional wäre. Aber bei eingehenderer Prüfung der Tatsachen müssen die Wertbestimmungen, wie wir sehen werden, verschieden ausfallen. Sehen wir von dem quantitativen Verhältnisse ab, das zwischen der Agglutininwirkung gegenüber der sich entwickelnden und der Agglutininwirkung gegenüber der schon entwickelten Kultur in der letzten Beobachtungsperiode beim Esel besteht, einem Verhältnisse, das zu dem in der vorhergehenden Periode beobachteten sich umgekehrt verhält, so ergibt sich ganz deutlich, daß das Agglutinationsphänomen der in der Entwickelung begriffenen Kultur gegenüber stärker ist, da es hier einen viel höheren Grad erreicht, und daß es hier rascher Variationen aufweist, als bei der schon entwickelten Kultur.

Mittels weiterer Untersuchungen (an Schafen) werde ich nachweisen, daß die Agglutinationsreaktion sogar ein antagonistisches Verhalten in den Versuchen an den beiden Kulturen, nämlich an der in Entwickelung begriffenen und der schon entwickelten, zeigen kann. Dieser weiteren eben angedeuteten und noch anderer Untersuchungen werde ich mich bedienen müssen, um der von mir früher ausgesprochenen Behauptung eine Stütze zu geben, daß nämlich zwischen der agglutinierenden und der antitoxischen Wirkung keine direkte Beziehung besteht; beide sind unabhängig voneinander, so daß man auf die Frage, ob die Agglutinine für den Erfolg einer Vaccination nützlich, nachteilig oder indifferent sind, bis jetzt, wenigstens nach meinen Untersuchungsergebnissen, mit der letzteren Behauptung antworten kann.

In der Tat ging schon aus den Versuchen mit dem Eselserum hervor, daß, während vom 9. Mai 1904 bis zum 10. Juni 1904 (Fig. 1) die agglutinierende Wirkung sich (sowohl der in Entwickelung begriffenen als auch der schon entwickelten Kultur gegenüber) unverändert erhielt, die antitoxische Wirkung variierte, denn bei Verwendung einer gleichen Serumdosis (3 ‰ ccm) sah man beim Kaninchen bald eine Schutzwirkung und bald den Tod eintreten; das Virus hatte fast den gleichen

Wirksamkeitsgrad, da es die Kontrolltiere in 19 und in 15 Stunden tötete.

Diese Verschiedenheit zeigt sich noch besser bei der Wiederholung der 3 Versuche mit dem Serum von 3 Kaninchen, die in derselben Art und Weise vacciniert worden waren. Ihr Serum zeigte antitoxische Eigenschaften, die bei zweien (b, c) gleich waren, während das Serum des dritten (a) in derselben Dosis und gegen dasselbe Virus das Kaninchen zwar schützte, aber doch nicht verhindern konnte, daß das Tier ein flüchtiges Fieber und leichte motorische Störungen bekam. Das Agglutinationsvermögen erreichte nun bei den 3 Seris folgende Werte, und zwar gegenüber der in Entwickelung begriffenen Kultur:

	1:5	1:10	1:20
Kaninchen a	++	±	—
„ b	±	—	—
„ c	++	—	—

und gegenüber der entwickelten Kultur:

	1:5	1:10	1:20
Kaninchen a	+	—	—
„ b	±	—	—
„ c	++	—	—

(Die Versuche wurden mit demselben Kulturmaterial und in derselben Zeit ausgeführt.)

Bei zwei anderen Kaninchen wandte man dieselbe Vaccinationsmethode wie bei den 3 oben erwähnten an, aber da bei dem 2. Tiere die Vaccination in stärkerem Maße gesteigert worden war, bis zu 9,2 ccm Virus mit 9 Verstärkungen, so erhielt man ein Serum, welches weniger wirksam war, als das von dem ersten gewonnene, welchem mit 6 Verstärkungen 4,4 ccm Virus injiziert worden waren. Trotz dieser Verschiedenheit der kurativen Wirkung, die bei derselben Dosis in einem Falle das Kaninchen schützte und im anderen nicht, lieferten die Agglutinationsversuche der beiden Seren, die in vergleichender Weise (d. h. mit demselben Kulturmaterial und zu gleicher Zeit) wiederholt wurden, die gleichen Resultate, und zwar fielen sie sowohl bei der in Entwickelung begriffenen als auch bei der schon entwickelten Kultur negativ aus.

Bei Gelegenheit dieser Untersuchungen am Kaninchen war es mir möglich festzustellen (worauf ich übrigens auch schon bei dem Esel aufmerksam gemacht habe), daß in einem Falle das Agglutinationsphänomen bei der entwickelten Kultur sehr deutlich war (bis zu einem Verhältnisse von 1:40) und bei der in Entwickelung begriffenen Kultur fehlte. Das in Rede stehende Serum hatte eine hohe Heilwirkung, denn es vermochte das Kaninchen in einem Verhältnisse von 0,5 ‰ vollkommen zu schützen, während das Kontrolltier in 16 Stunden starb.

Wie der Esel und das Kaninchen, so gab uns auch das Schaf bei den verschiedenen Untersuchungen seines Serums Gelegenheit, die Nichtübereinstimmung zwischen kurativer und agglutinierender Wirkung festzustellen, sei es nun, daß diese letztere variierte oder stationär blieb.

Wenn das Schaf in der Tat 15 Tage nach der letzten Verstärkung mit 6 ccm Virus das Kaninchen mit 2 ‰ ccm seines Serums schützte und für die Agglutinine die folgenden Werte zeigt:

bei in Entwickelung begriffener Kultur			bei entwickelter Kultur		
150	200	300	20	40	60
++	++	—	++	+	—

so schützt es doch 15 Tage nach der darauffolgenden Verstärkung mit 8 ccm Virus das Kaninchen nicht mittels derselben Serumdosis. Man könnte glauben, daß die Verminderung der kurativen Wirkung in Beziehung zu der Abnahme der Agglutinationsfähigkeit stände, die gegenüber der in Entwickelung begriffenen Kultur auf 60 und gegenüber der entwickelten auf 20 reduziert ist; aber die folgenden Tatsachen lassen das Irrtümliche einer solchen Vorstellung klar erkennen, weil bei denselben Agglutiningehaltsgraden das Kaninchen am Leben bleibt, wenn es 2 ccm Serum erhält, das von dem Schafe 10 Tage nach der Verstärkung mit 12 ccm Virus entnommen ist. Bei den beiden neuen Serumversuchen 15 und 20 Tage nach der erwähnten Verstärkung mit 12 ccm Virus, findet man, daß sich beim ersten Serum beim Kaninchen keine Wirkungen des Virus bemerkbar machen, während es beim zweiten stirbt, wenn auch die verwandte Serumdosis dieselbe ist und bei beiden Serumproben dieselben Agglutininwerte bestehen bleiben:

bei in Entwickelung begriffener Kultur			bei entwickelter Kultur		
20	40	60	10	20	40
++	+	—	++	+	—

(Schluß folgt.)

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. XLIII. Heft 7.

Veränderungen von Bakterien im Tierkörper.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag.
Vorstand Prof. Hueppe.]

I. Versuche mit Typhusbacillen.

Von
Prof. Dr. **Oskar Bail** und Dr. **Hans Rubritius**,
Assistenten des Institutes. Assistent der chirurgischen Klinik.

Bakterien verschiedenster Art zeigen im infizierten Tierkörper deutlich nachweisbare Veränderungen morphologischer und physiologischer Natur gegenüber solchen, die in künstlicher Kultur gehalten werden. Dieselben sind mehr oder minder auffällig, und gelegentliche Angaben finden sich mehrfach in der Literatur vor. Am deutlichsten ausgesprochen sind sie vielleicht beim Milzbrandbacillus, dessen eigenartiges Verhalten im Tierkörper (Kapselbildung, Widerstand gegen Phagocytose) in neuerer Zeit viel Beachtung gefunden hat (Metschnikoff, Danysz, Deutsch, Gruber, Löhlein u. A.).

Weniger beachtet wurden bisher andere Bakterien, bei denen sich aber Unterschiede zwischen „Tierbacillen" und „Kulturbacillen" nicht minder deutlich nachweisen lassen. Besonders physiologische Zustandsänderungen sind von hoher Bedeutung, da erst ihr Verständnis einen richtigen Einblick in das trotz aller Forschung durchaus rätselhafte Problem der bakteriellen Infektionen gewährt.

Aus diesem Grunde wurde eine Versuchsreihe an verschiedenen pathogenen Mikroorganismen unternommen, um das Bestehen, den Grad und die Bedeutung der Veränderungen kennen zu lernen, welche künstlich gezüchtete Bakterien bei ihren Verweilen im infizierten Tierkörper annehmen. Der Typhusbacillus geht in dieser Reihe voran, weil er bereits genauer studiert und sein verändertes Verhalten im Tierkörper gegenüber der agglutinierenden und bakteriolytischen Serumaktivität bereits früher festgestellt worden ist[1]).

Die Hauptversuche wurden mit dem im Institute zu theoretischen Studien über Infektion vielbenutzten Typhusstamme „Dobschau" durchgeführt. Da dieser seit Jahren sehr viel in Kultur und im Meerschweinchen verweilt hat und dadurch geändert sein konnte, wurde die Richtigkeit und allgemeine Geltung des Gefundenen noch an einem frisch aus dem Menschen gezüchteten Typhusstamme „Mottl", welchen wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Kollegen Dr. Zupnik verdanken, untersucht.

Die morphologischen Veränderungen, welche der Typhusbacillus in der Bauchhöhle von tödlich infizierten Meerschweinchen eingeht, sind nicht so in die Augen springend wie die des Milzbrandes, aber immerhin noch auffällig genug. Sie bestehen in einem Größerwerden der viel plumper aussehenden Tierbacillen. Ein Vergleich der Bakterien, welche vom gleichen Impfmateriale ausgehend im Tiere und in einer Kultur

---

1) Archiv f. Hygiene. Bd. LXII. und Bd. LII. Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 43.

gewachsen sind, ergibt beträchtliche Unterschiede. Daß die Tierbacillen öfters recht kurz sind, mag mit einer sehr raschen Teilung zusammenhängen; Bildung kleiner Häufchen ist nicht selten. Ueber die Bildung von Kapseln wurde kein sicherer Aufschluß gewonnen; die Möglichkeit einer solchen soll nicht bestritten werden.

Sehr wichtig sind die physiologischen Verschiedenheiten der Bacillen aus dem Tiere und aus der Kultur. Sie äußern sich in einer sehr großen Widerstandskraft der ersteren gegen die verschiedenen Aeußerungen der Serumaktivität. Hingegen unterliegen auch Typhusbakterien, welche lange ohne Unterbrechung im Tiere verweilt haben noch der Phagocytose, sowohl in vitro wie in der Meerschweinchenbauchhöhle, wo selbst bei schwerster Infektion die spärlich vorhandenen Leukocyten noch als Phagocyten wirken können.

Das Mittel, einen Typhusbacillus dauernd im „tierischen“ Zustande zu erhalten, besteht in der ununterbrochenen Uebertragung des Peritonealexudates von einem Meerschweinchen auf das andere. Doch kann die Ausbildung dieses Zustandes, wie der Typhus „Mottl“ zeigt, schon im ersten Tiere erfolgen, während außerhalb des lebenden Körpers binnen sehr kurzer Zeit der gewöhnliche Kulturzustand eintritt.

Mit Typhus Dobschau wurden 2 Serienimpfungen von je 4 Meerschweinchen durchgeführt. Die erste diente zum Teil zur Ausbildung der Technik der Versuche und ist zum Teil, die zweite ganz wiedergegeben.

Die Gewinnung der tierischen Bacillen geschieht am besten so, daß die Bauchhöhle des einer schweren ip. Infektion erlegenen Tieres sofort mit physiologischer NaCl-Lösung ausgespült wird. Das aufgesaugte Spülwasser wird sofort auf ein steriles, dichtes Papierfilter gebracht, wodurch der größte Teil der Zellen des Exsudates zurückgehalten wird. Die abgelaufene trübe Flüssigkeit wird sofort zentrifugiert, der fast nur aus Bacillen bestehende Satz, wenn notwendig, nochmals gewaschen und schließlich in der erforderlichen Menge in Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Es muß darauf geachtet werden, alle Manipulationen bis zum Beginne des Versuches so rasch wie möglich und unter Bedingungen (kalter Raum) durchzuführen, welche ein Weiterwachsen der Bacillen und damit ihre Umwandlung in den Kulturzustand verhindern. Das in der Bauchhöhle vorhandene Exsudat direkt zu verwenden empfiehlt sich nicht, einerseits weil es an sich oder nach Zusatz von Serum sehr leicht gerinnt, andererseits um den Einwand zu vermeiden, daß die Flüssigkeit des Exsudates an der Besonderheit der Reaktion beteiligt sei.

Zur Prüfung der Bakteriolyse wurde fast immer, dem Zwecke der Versuche entsprechend, Meerschweinchenserum verwendet, das einen Zusatz von Typhusimmunserum erhielt. Als solches wurde meist ein vom Kaninchen stammendes Serum „K“, bisweilen auch das vom Pferde stammende Serum „Edgar“ benutzt.

Meerschweinchen 129 erhielt 2 Oesen Agarkultur von Typhus „Dobschau“ ip. Stirbt nach weniger als 14 Stunden mit schwerer Infektion. Mit dem Exsudate selbst werden Versuche angestellt, die aber wegen starker rasch auftretender Gerinnungen unbrauchbar waren.

Meerschweinchen 130 erhält 1,5 ccm Exsudat 129 ip. Stirbt in der Nacht mit schwerster Infektion. Das vorhandene Exsudat wird abgesaugt und dann die Bauchhöhle mit NaCl-Lösung ausgespült. Das Spülwasser diente direkt zum Versuche.

A. Agglutination mit Immunserum K, das in der Menge von 0,0001, 0,0005, 0,001, 0,005, 0,01 und 0,05 ccm den tierischen wie einer entsprechend dichten Aufschwemmung von Kulturbacillen von Agar (je 1 ccm) ausgesetzt wurde. Nach 2 Stunden bei 37° waren die Kulturbacillen bis zur Menge von 0,0005 ccm Serum vollständig agglutiniert,

0,0005 ccm hatten noch unvollständige, 0,0001 ccm keine Agglutination mehr hervorgerufen. Die Aufschwemmungen der Tierbacillen blieben trüb, doch hatten sich von 0,005 ccm bis 0,05 ccm Serum in der Trübung einige grobe Flocken abgesetzt.

B. Bakteriolyse. Für diese wie für alle folgenden Versuche war die Anordnung dieselbe. In alle Proben erfolgte die gleiche Einsaat von je einem Tropfen der Bacillenaufschwemmung. Die Zahl der Bacillen darin wurde durch eine Agarplatte bestimmt. Nach 4 Stunden Aufenthalt der Proben bei 37° wurde jede einzelne mit Agar vermischt zur Platte ausgegossen und so die Gesamtmenge der lebenden Bacillen ermittelt.

Einsaat sowohl von Kultur- wie von Tierbacillen = ∞.

	Tierbacillen	Kulturbacillen
0,25 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung	∞	ca. 10 000
0,25 „ „ + 0,0001 ccm Immunserum K	∞	„ 10 000
0,25 „ „ + 0,0005 „ „ „	∞	4 600
0,25 „ „ + 0,001 „ „ „	∞	9 500
0,25 „ „ + 0,005 „ „ „	ca. 2 Mill.	7 280
0,25 „ „ + 0,01 „ „ „	∞	„ 14 000

Meerschweinchen 131 enthält 1 ccm Exsudat 130 ip. Stirbt nach weniger als 12 Stunden mit schwerster Infektion. Versuchsanordnung und Resultat wie bei 130

Meerschweinchen 132 enthält 1 ccm Exsudat 131 ip. Stirbt nach weniger als 12 Stunden mit schwerster Infektion. Zum Versuche werden nur Aufschwemmungen abzentrifugierter und gewaschener tierischer und Kulturbacillen verwendet.

A. Agglutination mit Immunserum K in den Mengen von 0,001, 0,003, 0,005, 0,0075 und 0,01 ccm für je 1 ccm Aufschwemmung. Binnen 2 Stunden werden alle Kulturbacillen vollständig, die tierischen gar nicht agglutiniert; nur bei 0,01 ccm Serum setzen sich einige Flocken in der dicht trüben Flüssigkeit ab.

B. Bakteriolyse. Einsaat für Tierbacillen 7 300 000, für Kulturbacillen 9 000 000.

	Tierbacillen	Kulturbacillen
0,1 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung	∞	
0,1 „ „ + 0,0005 ccm Immunserum K	∞	4 700
0,1 „ „ + 0,001 „ „ „	∞	3 840
0,1 „ „ + 0,005 „ „ „	∞	3 600
0,25 „ „ + 0,1 „ NaCl-Lösung	∞	4 000
0,25 „ „ + 0,0005 „ Immunserum K	∞	1 932
0,25 „ „ + 0,001 „ „ „	∞	368
0,25 „ „ + 0,005 „ „ „	∞	984
0,1 „ Kaninchenserum + 0,1 „ NaCl-Lösung	∞	932
0,1 „ „ + 0,0005 „ Immunserum K	∞	6 800
0,1 „ „ + 0,001 „ „ „	∞	5 700
0,1 „ „ + 0,005 „ „ „	∞	9 600
0,25 „ „ + 0,1 „ NaCl-Lösung	∞	ca. 20 000
0,25 „ „ + 0,0005 „ Immunserum K	3 bis 500 000	568
0,25 „ „ + 0,001 „ „ „		232
0,25 „ „ + 0,005 „ „ „		220
	∞	4 864

C. Absorptionsversuch. Eine größere Menge Tier- und Kulturbacillen (ca. ½ Agarkultur) werden zentrifugiert, gewaschen und der verbleibende Satz wird in je 0,5 ccm NaCl-Lösung mit 0,01 ccm Immunserum K aufgeschwemmt. Nach 2 Stunden Aufenthalt bei 37°, wobei die Kulturbacillen agglutiniert werden, wird zentrifugiert und die klare Flüssigkeit in den Mengen von 0,1 und 0,3 ccm mit 1 ccm Aufschwemmung von Kulturbacillen versetzt. Ebenso wurde eine Kontrollprobe ohne Bacillen angesetzt. In dieser und derjenigen Probe, welche mit Tierbacillen in Berührung gewesen war, fand Agglutination (in letzterer zeitlich etwas verspätet) statt. Die Kulturbacillen hatten das Serum erschöpft. Beobachtungsdauer im ganzen 6 Stunden, davon 2 Stunden bei 37°.

II. Serie.

Meerschweinchen 133, 340 g, erhielt 1 ccm des mehrere Tage kalt aufbewahrten Exsudates 132 ip. Es starb in der Nacht mit mäßig zellreichem Exsudate, das zwar reichlich Bacillen von tierischem Charakter enthielt, aber doch weit weniger, als man sonst findet. Es wurde deshalb nur zur Fortführung der Serie verwendet.

Meerschweinchen 134, 200 g, erhielt 2 ccm Exsudat 133 ip. Starb in der Nacht mit dem Befunde schwerer Infektion. Die Bacillen wurden durch Ausspülen gewonnen und nach Waschung auf der Zentrifuge verwendet.

A. Agglutination. Je 1 ccm Aufschwemmung tierischer und Kulturbacillen mit Immunserum in der Menge von 0,0001, 0,0003, 0,0005, 0,0007, 0,001, 0,005 und 0,01 ccm

versetzt. Nach 2 Stunden Aufenthalt bei 37° waren tierische Bacillen nirgends, Kulturbacillen bis zur Menge von 0,0005 ccm Serum vollständig, von da an unvollständig agglutiniert. Nach Ablauf der Beobachtungszeit wurden die Proben tierischer Bacillen, welche 0,01 und 0,005 ccm Serum enthielten, für ½ Stunde auf 50—55° erwärmt (Methode von Weil); auch dann erfolgte keine Agglutination.

B. Bakteriolyse. Einsaat für Tierbacillen 270000, für Kulturbacillen 2060000.

	Tier-bacillen	Kultur-bacillen
0,25 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung		} ca. 15 000
0,25 „ „ + 0,0001 ccm Immunserum K	∞	
0,25 „ „ + 0,0005 „ „ „	∞	13 000
0,25 „ „ + 0,001 „ „ „	∞	9 000
0,25 „ „ + 0,005 „ „ „	∞	10 300
0,25 „ „ + 0,01 „ „ „	∞	ca. 30 000

Meerschweinchen 135, 420 g, erhielt 1 ccm Exsudat 134 ip. und starb in der Nacht mit dem Befunde schwerster Infektion. Verwendet werden nur abzentrifugierte und gewaschene Bacillen.

A. Agglutination von je 1 ccm Aufschwemmung mit 0,001, 0,002, 0,004, 0,006, 0,008 und 0,01 ccm Immunserum K. Innerhalb 1 Stunde war die Agglutination der Kulturbacillen vollständig geworden, die Proben mit tierischen Bacillen blieben trübe, doch bildeten sich einzelne Flocken, die in der trübbleibenden Flüssigkeit zu Boden sanken.

B. Bakteriolyse. Einsaat für Tierbacillen 640000, für Kulturbacillen 1670000.

	Tierbacillen	Kulturbacillen
0,3 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung	∞	ca. 10000
0,3 „ „ + 0,0001 ccm Immunserum K	∞	„ 3800
0,3 „ „ + 0,0005 „ „ „	∞	„ 2880
0,3 „ „ + 0,001 „ „ „	∞	„ 2900
0,3 „ „ + 0,005 „ „ „	∞	„ 4600
0,3 „ „ + 0,01 „ „ „	∞	„ 4300

C. Tierversuch. Meerschweinchen 137, 300 g, erhielt 1 Oese Kulturbacillen + 0,05 ccm Immunserum K ip. Schon nach ¼ Stunde waren zahlreiche Granula zu bemerken, nach ½ Stunde war die Zahl der Bacillen stark gesunken und Leukocyten traten auf. Sie wurden nach 2 Stunden viel zahlreicher und bildeten nach 5 Stunden ein eiteriges Exsudat, in dem aber immer noch einzelne Bacillen aufzufinden waren. Das Tier überlebte.

Meerschweinchen 136, 320 g, erhielt 1 Oese abzentrifugierten Satzes aus dem Exsudate von No. 135 mit 0,05 ccm Immunserum K ip. Die Vermehrung der Bacillen setzte von der ersten Viertelstunde an ungehemmt ein; Leukocyten traten nach 1½ Stunden in mäßiger Zahl auf, nahmen dann ab und nach 5 Stunden lieferte die Kapillarentnahme lediglich dichtgedrängte Bacillenmengen. Das Tier starb in weniger als 12 Stunden mit dem Befunde schwerster Infektion und lieferte mit den abzentrifugierten und gewaschenen Bacillen seines Exsudates das Material für den folgenden Versuch:

A. Agglutination von je 1 ccm Aufschwemmung tierischer und Kulturbacillen mit 0,002, 0,004, 0,006, 0,008, 0,01 und 0,05 ccm Immunserum K. Die Kulturbacillen werden binnen kurzer Zeit vollständig, die tierischen gar nicht agglutiniert.

B. Bakteriolyse. Einsaat für Tierbacillen 470,000, für Kulturbacillen 11,200000.

	Tierbacillen	Kulturbacillen
0,5 ccm Meerschweinchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung	∞	über 20000
0,5 „ „ + 0,0001 ccm Immunserum K	∞	„ 13000
0,5 „ „ + 0,0005 „ „ „	∞	„ 11500
0,5 „ „ + 0,001 „ „ „	∞	„ 2700
0,5 „ „ + 0,005 „ „ „	∞	„ 4200
0,5 „ „ + 0,01 „ „ „	∞	„ 5600

C. Absorptionsversuch. Abzentrifugierter Satz einer Aufschwemmung von 2 Agarkulturen und ein viel mächtigerer Satz einer Aufschwemmung von Exsudatbakterien werden in 1 ccm NaCl-Lösung mit 0,05 ccm Immunserum K verteilt, 2 Stunden bei 37° belassen und dann zentrifugiert. In gleicher Weise wird eine Kontrolle ohne Bakterien angesetzt. Die abgegossenen Flüssigkeiten werden in der Menge von 0,5, 0,1 und 0,05 ccm auf 1 ccm mit physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt, mit Kulturbakterien versetzt und 2 Stunden bei 37° gehalten. Die Serumverdünnungen, welche mit Kulturbacillen behandelt waren, ergaben keine Agglutination mehr, während die Kontrollproben und jene mit Tierbacillen behandelten in der Menge von 0,5 und 0,1 ccm vollständige, in der Menge von 0,05 ccm starke Agglutination ergaben. Nach 24-stündigem Stehen

im Zimmer waren die Kontrollproben und die Serumproben, welche der Einwirkung der Tierbacillen ausgesetzt waren, in der Menge von 0,5 und 0,1 ccm vollständig, in der Menge von 0,05 ccm fast vollständig agglutiniert, das Serum, das mit Kulturbacillen behandelt war, hatte in der Menge von 0,5 ccm positive, aber unvollständige, in den übrigen Proben keine Agglutination erzielt.

III. Versuch mit Typhus „Mottl".

Meerschweinchen 137, 435 g, erhielt eine schwache Agarkultur ip. und stirbt in der Nacht unter den Erscheinungen der schwersten Infektion. Im trüben, dünnen, fast zellfreien Exsudat finden sich massenhafte, oft in Häufchen liegende Bacillen, welche sich ganz wie beim Typhus „Dobschau", durch ihre Größe von den Kulturbacillen unterscheiden. Für die folgenden Versuche werden nur zentrifugierte und gewaschene Bacillen aus dem verdünnten und durch Papier filtrierten Exsudate verwendet.

A. Agglutination mit je 1 ccm Aufschwemmung tierischer und Kulturbacillen und 0,001, 0,0025, 0,005, 0,0075 und 0,01 Immunserum K und „Edgar". Die Kulturbacillen werden durch Serum K innerhalb $^1/_2$ Stunde vollständig, durch Serum „Edgar" auch vollständig, aber langsamer agglutiniert, wobei die stärkeren Konzentrationen letzteren Serums deutlich schwächer wirken (das Serum ist sehr alt). Die tierischen Bacillen zeigen innerhalb 2 Stunden bei 37° keine Agglutination, nach längerer Aufbewahrung bei Zimmertemperatur entstehen durch Serum K einzelne Flocken in dicht trüber Flüssigkeit, während Serum „Edgar" überhaupt nicht wirkt.

B. Bakteriolyse. Einsaat für Tierbacillen 1,670000, für Kulturbacillen 4,230000. Die Tierbacillen zeigen in den Proben mit 0,5 ccm Meerschweinchenserum und 0,0005, 0,001, 0,005 und 0,01 ccm Immunserum K ungehemmtes Wachstum, die Zahl der Kulturbacillen sinkt auf 8—15000 herab.

C. Absorptionsversuch mit den abzentrifugierten Sätzen von 2 Agarkulturen und einem entsprechend stärkeren von Tierbacillen, welche in 2 ccm NaCl-Lösung mit 0,05 ccm Immunserum K aufgeschwemmt und 4 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten wurden. Während dieser Zeit erfolgt fast vollständige Agglutination der Kulturbacillen, keine der tierischen. Die durch Zentrifugieren geklärte Flüssigkeit wird in den Mengen von 1, 0,4, 0,2 und 0,04 ccm (auf 1 ccm mit NaCl-Lösung gebracht) mit Kulturbacillen versetzt. Ebenso wird eine in gleicher Weise hergestellte, aber ohne Bacillen belassene Kontrollprobe verwendet. Nach 2 Stunden Aufenthalt bei 37° sind alle Kontrollproben und die Proben des mit tierischen Bacillen behandelten Serums in den Mengen von 1, 0,4 und 0,2 ccm vollständig, die mit 0,04 ccm schwach agglutiniert. Das mit Kulturbacillen behandelte Serum agglutiniert nicht mehr. Nach 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur ist die Agglutination in allen Kontrollproben und in dem mit tierischen Bacillen behandelten Serum in den Mengen von 1, 0,4 und 0,2 ccm vollständig, bei 0,04 ccm hat sich ein starker Satz bei Trübung der Flüssigkeit gebildet. Ebenso sieht die Probe mit 1 ccm des mit Kulturbacillen behandelten Serums aus, während die anderen gar nicht agglutiniert hatten.

Die angestellten Versuche verliefen im Prinzip so übereinstimmend und sind so klar, daß sie einer längeren Erläuterung kaum bedürfen: Die während einer erfolgreichen Infektion im Tierkörper herangewachsenen Typhusbacillen unterscheiden sich sehr wesentlich in morphologischer und physiologischer Hinsicht von saprophytisch, auf künstlichen Kulturen gezüchteten. Die Formveränderungen [1]) sind zwar nicht so auffällig, wie etwa die des Milzbrandbacillus unter analogen Bedingungen, sind aber deutlich genug. Noch wichtiger ist die im Tierkörper erlangte Widerstandsfähigkeit gegen die agglutinierende und bakterizide Seite der Serumaktivität, die sich sowohl in vitro wie in vivo nachweisen läßt. Der Typhus „Mottl" hat sie schon bei seinem ersten Aufenthalte im Meerschweinchenkörper fast vollständig erworben, wie der Typhus „Dobschau", bei welchem übrigens einige Anzeichen dafür sprechen, daß sich die Widerstandskraft bei dauerndem Aufenthalte im Tiere steigern läßt.

1) Sie treten ähnlich auch beim Wachstum in Serum außerhalb des Tierkörpers auf.

Allerdings ist die Unangreifbarkeit der Tierbacillen nun eine vorübergehende Erwerbung [1]) und erlischt in der ersten künstlich gezüchteten Generation sofort wieder, worauf auch bei Anstellung von Agglutinationsversuchen, die nicht über eine zweistündige Dauer ausgedehnt werden können, Rücksicht genommen werden muß. Beim Aufenthalte im konzentrierten Serum im bakteriziden Versuche erhält sich der „tierische“ Charakter der Bakterien offenbar länger. Auch ist der Widerstand gegen die Serumaktivität kein absoluter, wenn auch ein sehr hoher. Das beweist am besten der Umstand, daß es keineswegs gelingt, mit beliebig wenig tierischen Bacillen ein Meerschweinchen, das unter dem Einflusse des Immunserums steht, zu töten; eine bestimmte Zahl von Bakterien ist immer nötig. Auch außerhalb des Tierkörpers ist eine gewisse Empfindlichkeit gegen Agglutination und Bakteriolyse nicht zu verkennen, aber sie steht zu der von Kulturbacillen in keinem Verhältnisse.

Der Grund dieses geänderten physiologischen Verhaltens wird durch die mitgeteilten Absorptionsversuche, für welche der Einfachheit und Leichtigkeit wegen die Agglutination als Index diente, klar genug erwiesen: die Tierbacillen werden nicht agglutiniert und aufgelöst, weil das Serum keine Möglichkeit hat, sich mit ihnen zu verbinden [2]). Von einem Verbrauch agglutinierender Serumaktivität zeigen Tierbacillen gar nichts oder nur so wenig, als ihrer nicht absoluten Widerstandskraft gegen die Agglutination entspricht. Man mag sich die Angreifbarkeit von Bakterien durch Serum mit Hilfe von haptophoren Gruppen und Rezeptoren oder sonst auf irgend eine Weise erklären, die Typhusgeneration, die im Tierkörper heranwächst ist dieser Erklärung ebensowenig wie der Serumwirkung zugänglich.

Diese Erkenntnis, die sich sicher nicht nur auf das Verhalten der Typhusbacillen allein bezieht, kann nicht ohne Einfluß bleiben auf theoretische und praktische Immunitätsfragen. Wiederholt ist gezeigt und betont worden, daß Bakteriolyse typischer Art, selbst bei Choleravibrionen nur unter besonderen Umständen im Tierkörper möglich ist; bei Typhus läßt, wie allgemein anerkannt ist, eine Erklärung der Immunität durch die bloße, ärmliche Bakteriolyse des Pfeifferschen Versuches ohnedies viel zu wünschen übrig. Wenn nun überdies die Unmöglichkeit der Säftebakterizidie für Bacillen, die im Tierkörper wachsen, sich erweisen läßt, so hat die Serumbakteriolyse in der Meerschweinchenbauchhöhle wirklich nur für die ganz unnatürlichen Infektionsbedingungen des typischen Pfeifferschen Versuches einige Bedeutung, wo die eingespritzten Kulturbacillen in den ersten Stunden so aufgelöst oder vermindert werden müssen, daß die nachfolgende leukocytäre und Säftereaktion der übrig Gebliebenen Herr wird. Ist aber eine Leukocytenreaktion erfolgt, so ist der Pfeiffersche Versuch entweder überhaupt nicht mehr möglich oder er kann allein nichts mehr erklären. Es dürfte der Zeitpunkt nicht fern sein, wo die Verteidiger der Bakteriolyse, insoweit diese den Erklärungsgrund der Immunität abgeben soll, auf den einzigen Choleravibrio als Beweismaterial angewiesen sein werden, welcher

1) Die oft erhobene Tatsache, daß frisch aus dem Menschen gezüchtete Typhusbacillen schwer agglutinabel sind, scheint darauf hinzuweisen, daß der Aufenthalt im Menschenkörper die Bakterien tiefer beeinflußt, als der in der Meerschweinchenbauchhöhle. Gewisse Stämme, wie der von Friedberger beschriebene Typhus „Sprung“, sind durch große Widerstandskraft gegen Serum dauernd ausgezeichnet.

2) Vergl. dazu eine während dieser Versuche veröffentlichte Arbeit von Hirschbruch. (Arch. f. Hygiene. Bd. LVI. No. 3.)

als den krassesten Saprophyten sehr nahe stehend, noch einige Zeit gute Dienste leisten dürfte. Daß aber auch für ihn im Prinzip keine anderen Regeln gelten werden wie für den Typhusbacillus, läßt sich auch vorher sagen.

Das Ganze soll nicht heißen, daß die Aktivität der Körpersäfte bedeutungslos sei, nur daß sie nicht dort liegt, wo man sie zu suchen pflegt, in der einfachen Abtötung und Auflösung der Bakterien.

Zu einer weiteren Bemerkung geben die mitgeteilten Versuche Gelegenheit, welche die Ansicht Wassermanns und Citrons[1]) über die Natur der aggressiven Wirkung von Typhusexsudaten betrifft. Diese soll nach der Ansicht der genannten Forscher durch aufgelöste Bakteriensubstanz veranlaßt sein, welche die bakterizide Wirkung der Körpersäfte so wie ein künstlich hergestellter Bakterienextrakt verhindert. Zu den Bedenken, welche bereits gegen diese Anschauung geäußert wurden, gesellt sich jetzt ein schwerwiegendes neues. Man kann sich doch nur schwer eine andere Schädigung von Typhusbacillen im Tiere vorstellen, als eine Auflösung durch Körpersäfte. Höchstens käme noch ein natürliches Absterben derselben in Betracht, durch welche Bakteriensubstanz frei werden könnte. Erstere ist aber nur bei Einspritzung größerer Mengen von Kulturbacillen möglich und kann bei serienweiser Exsudatimpfung keine Rolle mehr spielen, letzteres ist bei der kurzen Versuchsdauer (die Tiere leben ja keine 12 Stunden) von vornherein unwahrscheinlich und läßt sich auch durch mikroskopische Untersuchung nicht beweisen. Die Versuche von Radzievsky[2]), auf die man sich für die Auflösung ungezählter Bakterien während der Infektion zu berufen pflegt, sind an sich gewiß richtig, aber ihre Schlußfolgerungen sind maßlos übertrieben. Würden sie öfter nachgemacht als zitiert, so würde man sich leicht überzeugen, daß während einer Infektion, wie die oben mitgeteilten waren, wo also hauptsächlich tierische Bacillen verwendet wurden, von Degeneration nicht viel zu sehen ist. Man würde aber aber auch sehr bald innewerden, wie unsicher die Deutung gefärbter, mikroskopischer Bilder ist, wozu noch kommt, daß Radzievsky den Unterschied von tierischen und gezüchteten Bacillen nicht kannte.

Wenn also Bakterien, die im Tierkörper heranwachsen, der Serumwirkung überhaupt unzugänglich sind, wenn sie nicht nur nicht aufgelöst werden, sondern die Serumaktivität gar nicht auf sich fixieren können, wenn weiter gewaltsame Extraktionsmittel, wie bei der Gewinnung sog. künstlicher Aggressine nicht in Frage kommen können, dann wird es recht unwahrscheinlich, daß solche Bacillen Substanz in größter Menge abgeben sollen, welche Bakteriolyse hemmt. Mit länger dauerndem Aufenthalt im Tiere wird überdies die Bildung und Gewinnung natürlicher Aggressine immer sicherer, während die Abgabe von Leibessubstanz nach Art der in künstlichen Extrakten vorhandenen immer mehr erschwert ist

1) Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 28.
2) Zeitschrift für Hygiene. Bd. XXXVII.

Seltenere Formen der Diphtherie.

[Aus dem pathologisch-hygienischen Institut der Stadt Chemnitz. Direktor: Prof. Nauwerck.]

Von Dr. J. **Günther**, Assistenzarzt.

I. Diphtherie des Darmes.

Der vor 7 Jahren im Chemnitzer Institut geleistete Nachweis (Schoedel, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 26), daß bei Diphtherie der Rachenorgane Diphtheriebacillen nicht bloß sich vollvirulent im Magen erhalten, sondern auch in den Darm und in die Faeces übergehen können, hat ebenso wie die bestätigende kurze Notiz von Bosse (dieses Centralbl. 1903. Bd. XXXIII. p. 478) wenig Beachtung gefunden. Süsswein (Wiener klin. Wochenschr. 1902. No. 6, vergl. Referat in Baumgartens Jahresbericht. 1902. p. 232 und dieses Centralbl. 1903. Bd. XXXII. p. 87) hat Diphtheriebacillen zwar im Magen, niemals aber im Darm und in den Faeces auffinden können. Nach Süsswein wirkt der Magensaft bakterizid auf die Diphtheriebacillen ein, dazu kommt dann im Darme eine Ueberwucherung durch Coli-Bacillen, eine Annahme, die Süsswein dadurch unterstützen zu können glaubt, daß er gleiche Mengen Diphtheriebacillen und Coli-Bacillen in Bouillon zusammen züchtete, wobei die Diphtheriebacillen zu Grunde gingen. M. Beck (Kolle und Wassermann, Handbuch. Bd. II. 1903) beschränkt sich auf die Bemerkung, „es sei unwahrscheinlich, daß es zu lokalen, diphtheritischen Prozessen auf der Darmschleimhaut kommen kann, da die Diphtheriebacillen durch die Säure des Magens in Bälde vernichtet werden“. Beck selbst hat Diphtherie des Darmes niemals beobachtet.

Diesen ablehnenden, zum Teil wenigstens mehr theoretisierenden Darstellungen gegenüber ist es uns erwünscht, nachstehend zeigen zu können, daß es tatsächlich eine echte, bacilläre Diphtherie des Darmes gibt, und so gleichzeitig die Schoedel-Bosseschen Mitteilungen zu bestätigen und wesentlich zu ergänzen.

Bei einem 2-jährigen Mädchen, welches Masern durchgemacht hatte, fanden sich bei der 19 Stunden nach dem Tode vorgenommenen Sektion (S.-No. 523. 1906) neben starker Rhachitis, doppelseitiger, eiteriger Otitis media, ausgedehnter Bronchopneumonie, Herzdilatation, geringer Milzschwellung folgende, uns hier interessierende Veränderungen: Doppelseitige eiterige Conjunctivitis und krupöse Keratitis. Das am Tage vor dem Tode in unserem Institut kulturell untersuchte Conjunctivalsekret enthielt Bacillen vom Aussehen der Diphtheriebacillen.

Katarrhalische Angina. Laryngo-tracheitis catarrhalis. Im Pharynx und im Oesophagus, dem Ringknorpel entsprechend, bestehen oberflächliche, grauweißliche, gereinigte (diphtheritische) Geschwüre. Die Magenschleimhaut ist blaß. Der Darminhalt ist diarrhoisch. Die Schleimhaut des Ileum und des Dickdarms zeigt Rötung und Schwellung unter stärkerer Beteiligung der follikulären Apparate. Im untersten Teile des Ileum, in der Flexura sigmoidea und im Rectum finden sich außerdem stellenweise feine, grauweiße, trübe, teils membranös abziehbare, teils festhaftende Nekrosen der Schleimhaut. Mesenterialdrüsen geschwellt und gerötet.

Von den diphtheritisch erkrankten Partieen des Dünn- und Dickdarms wurden alsbald, nachdem der Darminhalt sorgfältig abgespült worden war, nekrotische Schleimhautfetzchen entnommen und auf einer Anzahl von Platten mit Löfflerschem Blutserum verimpft. Bereits nach 6 und 10 Stunden ließen sich nach der Neisserschen Färbemethode ziemlich reichlich typische Diphtheriebacillen mit Polkörnchen nachweisen.

Von der einen, 24 Stunden alten Kultur wurde eine Aufschwemmung von einer Platinöse Kultur in 2 ccm Bouillon gemacht und von dieser 0,5 ccm einem Meerschweinchen subkutan injiziert. Nach 40 Stunden starb das Tier. Die Sektion ergab Oedem an der Impfstelle, wässerige Ergüsse in den Herzbeutel und die Pleuren, sowie ausgesprochene Schwellung, Hyperämie und Blutungen beider Nebennieren.

Die mikroskopische Untersuchung der entsprechenden Darmteile des Kindes zeigte die gewöhnlichen Bilder diphtheritischer, die halbe Dicke der Schleimhaut nur ausnahmsweise etwas überschreitender Verschorfung, während krupöses Oberflächenexsudat nur spurweise hervortrat. Die Nachbarschaft mit Einschluß der Submucosa erwies sich als mehr oder weniger stark kleinzellig infiltriert. An Präparaten aus dem Ileum zeigten sich in der nekrotischen Schleimhaut bei Anwendung besonders der Gramschen Färbung einzelne, locker abgegrenzte Haufen von Stäbchen mit den bekannten Merkmalen der Diphtheriebacillen. Färbte man die Schnitte nach Neisser, aber etwas länger als bei den Deckglaspräparaten üblich, so traten entsprechende Anhäufungen von Bacillen zu Tage, die sich durch ihren Gehalt an teils endständigen, teils im Leib verteilten, metachromatischen Körnchen scharf von anderen Formen abhoben, welche man mit Diphtheriebacillen allenfalls hätte in Verbindung bringen können.

Die Ansiedelung der Diphtheriebacillen hat sich in unserem Falle auf jene Darmteile beschränkt, in welchen ein längeres Verweilen des Inhaltes stattfindet.

II. Phlegmone der Haut[1]).

Ein $1^3/_4$ Jahre alter Knabe erkrankt mitten aus voller Gesundheit unter Fieber, während sich am Bauch in der Umgebung einiger kleiner Exkoriationen, die die Mutter als Kratzwirkungen auffaßte, eine auffällige Rötung einstellt. Nach 4 Tagen auf die chirurgische Abteilung des Herrn Hofrat Dr. Reichel aufgenommen, dem wir für die Ueberlassung der klinischen Daten zu verbindlichem Danke verpflichtet sind, zeigt das gut genährte, rhachitische Kind unterhalb des Nabels eine querverlaufende Rötung und derbe Infiltration der Bauchhaut. Die Veränderung beginnt in der rechten Weiche, reicht bis zur Symphyse und nach links bis zur Wirbelsäule. Unterhalb des Nabels erscheint eine etwa talergroße Hautstelle dunkelrot, glänzend und fühlt sich etwas weicher an. Von den erwähnten Exkoriationen ist nichts mehr zu sehen. Temperatur 39,1 ° C, Puls 160. Operativer Eingriff zuerst verweigert. In den folgenden 2 Tagen breitet sich die Phlegmone bis fast zur linken Achselhöhle aus. Temperatur 38,2 °—39 ° C. Nunmehr große Inzisionen von einer Spina anterior superior zur anderen, sowie vom linken Darmbeinkamm bis in die Axilla. Die Haut wird in breiter Ausdehnung von der Unterlage losgelöst, wobei

1) Die bakteriologischen Untersuchungen wurden von dem damaligen Assistenzarzt, Herrn Dr. Rautenberg ausgeführt.

sich aus dem geschwollenen Unterhautzellgewebe reichlich trübe Flüssigkeit entleert. Eigentliche Abscesse treten nicht zu Tage. Nachmittags Kollaps, zunehmende Cyanose, Temperaturanstieg bis 41 ° C. Abends Tod.

Bei der Sektion (S.-No. 354. 1905) zeigen die Operationswunden, welche seitliche Taschen aussenden, soweit sie mit Dermatolgaze in Berührung stehen, einen trockenen, zum Teil schmutzig-grauen, zum Teil mit einem zarten, gelblichen Belag versehenen Grund. Das angrenzende subkutane Gewebe ist von reichlicher, trüber Flüssigkeit durchsetzt. Im übrigen findet sich: Doppelseitige, eiterige Otitis media, Oedem des vorderen Mediastinum, subpericardiale Blutungen an beiden Blättern, frische, zarte Endocarditis verrucosa der Mitralis, unerhebliche Bronchopneumonie, Schwellung und einige dunkelrote Infarkte der Milz, Gastritis catarrhalis, Enteritis follicullaris, Schwellung und Rötung der Mesenterial- und Inguinaldrüsen, Rhachitis.

In Deckglasausstrichen von dem Sekret verschiedener Stellen genannter Wunden finden sich zahlreiche, Gram-positive, zum Teil keulenförmige Bacillen neben spärlichen Staphylokokken. Auf den mit dem Wundsekret beschickten Löffler-Serumplatten entwickeln sich neben vereinzelten Staphylokokkenkolonieen massenhafte Kolonieen, welche sich als aus typischen Diphtheriebacillen bestehend erweisen. Die Neissersche Polkörperchenfärbung tritt bereits nach 6 Stunden in die Erscheinung. Meerschweinchen, die mit Aufschwemmungen der Kulturen unter die Bauchhaut geimpft wurden, sterben je nach der Dosis nach 36—60 Stunden und zeigen anatomisch Oedem und Blutungen an der Impfstelle, sowie seröse Ergüsse in die Pleuren und den Herzbeutel. Ein subkutan geimpftes Kaninchen zeigt nur ein vorübergehendes Kranksein. Bei der Kultivierung des lokalen Oedems des einen Meerschweinchens entwickeln sich ausschließlich Diphtheriebacillen.

Zu den bisher beobachteten Formen von Hautdiphtherie (Wunddiphtherie, umschriebene Nekrosen und Abscesse) tritt nun das Bild der flächenhaft progressiven, subkutanen Phlegmone hinzu. Die in unserem Falle gleichzeitig vertretenen, spärlichen Staphylokokken scheinen nur eine untergeordnete Rolle gespielt zu haben. Wahrscheinlich hat es sich zunächst um eine Einimpfung von Diphtheriebacillen in die Bauchhaut durch Kratzen oder sonstige leichte Verletzungen gehandelt. Doch ließ sich nicht feststellen, daß in der Umgebung Diphtherie bestanden hat. Auch an dem Kinde selber wurden sonstige diphtherische Prozesse weder während des Lebens noch bei der Sektion aufgefunden.

Einen völlig entsprechenden Fall haben wir in der Literatur nicht angetroffen. Denn bei dem von Baginský im Nothnagelschen Handbuch mitgeteilten Falle (multiple, diphtherische Hautentzündungen im Anschluß an ein Erythema multiforme, phlegmonöse Infiltrationen in der Umgebung, tiefgreifende, myositische Abscesse, eiterige Gelenksentzündung, diphtheritische Otitis) scheint es sich mehr um lokale Absceßbildung gehandelt zu haben.

Ein Beitrag zur Kenntnis der kulturellen Eigenschaften der Tuberkelbacillen.

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie in Graz, Vorstand Prof. R. Klemensiewicz.]

Von Dr. **Johann v. Szabóky**,
em. Assistent der Kgl. Universität in Budapest, d. Zt. Kurarzt in Gleichenberg.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß für die Kultur verschiedener Bakterienspecies die Zusammensetzung des Nährbodens oft von ausschlaggebender Bedeutung ist. Insbesondere war das Bestreben darauf gerichtet, für die Kultur von Bakterien solche Eigenschaften des Nährsubstrates zu finden, durch die sämtliche bekannten biologischen Merkmale, insbesondere die Virulenz der betreffenden Bakterienart, einige Zeit erhalten werden konnten.

Man wird es daher begreiflich finden, daß solchen Bestrebungen folgend, für die Zucht der Tuberkelbacillen von einer großen Zahl von Forschern sehr viele verschiedenartige Nährzubstrate verwendet und für diesen Zweck als besonders geeignet empfohlen wurden.

Wenn ich im Rahmen dieser kurzen Mitteilung auf einen ausführlichen, den Gegenstand meiner Versuche betreffenden Literaturnachweis verzichte und in dieser Beziehung auf das Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann, sowie auf das am Schlusse beigegebene Literaturverzeichnis verweise, so wird man das mit der ganz besonderen Reichhaltigkeit der vorliegenden Literatur entschuldigen müssen. Das Literaturverzeichnis enthält jene Arbeiten, welche für meine Versuche hauptsächlich in Betracht kamen.

Meine eigenen Versuche verfolgten den Zweck, eine bestimmte Kultur von Tuberkelbacillen, die im Laboratorium vorrätig war und schon seit längerer Zeit in vielen Generationen auf Lungenglycerinagar, dessen Zusammensetzung im folgenden mitgeteilt ist, gezüchtet worden war, auf verschiedenen Nährböden und unter verschiedenen Bedingungen der Feuchtigkeit und Reaktion derselben zu züchten und die Schnelligkeit des Wachstums wie auch gewisse Veränderungen des Nährbodens zu untersuchen.

Um einen Anhaltspunkt für die Virulenz der von mir verwendeten alten Laboratoriumskultur zu gewinnen, verglich ich sie mit einer von mir aus menschlichem Sputum frisch gezüchteten Kultur. Es ergab sich, daß die alte Kultur, unter gleichen Bedingungen wie die frische, auf Meerschweinchen verimpft, den Tod der Tiere erst nach $3^1/_2$-monatlicher Krankheitsdauer herbeiführte, während die frische Kultur nach Ablauf von 4—5 Wochen den Tod sicher herbeiführte.

Wenn also auch die ältere, durch viele Generationen auf künstlichem Nährboden nur mit einzelnen Tierpassagen fortgezüchtete Kultur einen viel geringeren Virulenzgrad für das Meerschweinchen besaß, als die frisch aus menschlichem Sputum gezüchtete Kultur, so war das pathologisch-anatomische Bild der Organe von an alter Kultur verendeten Meerschweinchen doch im allgemeinen dasselbe, wie es auch die an frischer Tbc.-Kultur eingegangenen Tiere zeigten. Es entstand in beiden Fällen,

bei subkutaner Applikation des Infektionsmateriales in eine Hauttasche des Abdomens, eine Knötchentuberkulose der meisten Organe.

Da mir in einigen Vorversuchen sowohl die Uebertragungen von Nährboden zu Nährboden, sowie auch die Anlegung von Reinkulturen aus dem Sputum sowohl als auch aus dem Körper des toten Meerschweinchens ausnahmslos gut gelungen waren, so erklärte der Institutsvorstand es als meine Aufgabe, mit der alten gut wachsenden Kultur eine Reihe von systematischen Untersuchungen über die kulturellen Eigenschaften dieses Stammes von Tbc. anzustellen. Es wurde dabei die Voraussetzung gemacht, daß die alte durch viele Generationen auf das saprophytische Wachstum angepaßte Kultur weniger zur Variation neige als ein frisch aus dem menschlichen Körper oder dem Tiere herausgezüchteter Stamm von Tbc.

Die aus menschlichem Sputum und aus der Tierleiche gewonnenen Kulturen wurden als Vergleichsobjekte zur Kontrolle der Wachstumsverhältnisse und des Virulenzgrades benutzt.

1. Kulturen auf Lungenagar.

Der Nährboden, der meines Wissens zuerst von Kowalsky[1]) zur Zucht von Tuberkelbacillen benutzt wurde, wird im hiesigen Laboratorium nach folgendem Rezept hergestellt[2]).

1 kg Lungen in 2 l Wasser gekocht,
10 g Agar-Agar (Stangenagar),
10 g ClNa,
20 g Pepton (Witte),
100 g Glycerin,
10 g Traubenzucker.

Nach dem Kochen und Filtrieren wurde der Nährboden auf Lackmusneutralität eingestellt, nochmals erhitzt und schließlich in Portionen von je 20 ccm in entsprechend weite, sterile Proberöhrchen gefüllt und in üblicher Weise durch dreimaliges kurzes Erhitzen im strömenden Dampfe völlig keimfrei gemacht.

Diesen neutralen Lungenagar verwendete ich zur Anlegung der Kontrollkulturen, da auf diesem Nährboden nach den Erfahrungen, die seit dem Jahre 1890 im Laboratorium mit demselben gemacht waren, die Kulturen in einer verhältnismäßig kurzen Zeit auswuchsen (3 Tage) und später zu sehr üppigen Auflagerungen sich entwickelten.

Kontrollkulturen anzulegen schien mir geboten, da ich nicht nur mit Lungenagar in nach obigem Rezepte arbeitete, sondern mit diesem und den anderen von mir verwendeten Nährmedien die Einwirkung verschiedener Reaktion und Feuchtigkeitsgrade auf das Wachstum der Kulturen untersuchte.

Um die Einflüsse der Reaktion zu prüfen, wurden zu 20 ccm des verflüssigten neutralen (Lackmus) Agars verschiedene Quantitäten von $^1/_5$ N, NaHO oder $^1/_5$ N, H_2SO_4 zugesetzt und der Rest auf 21 ccm durch Aqua destillata ergänzt. Auf diesem Wege wurden Nährböden von

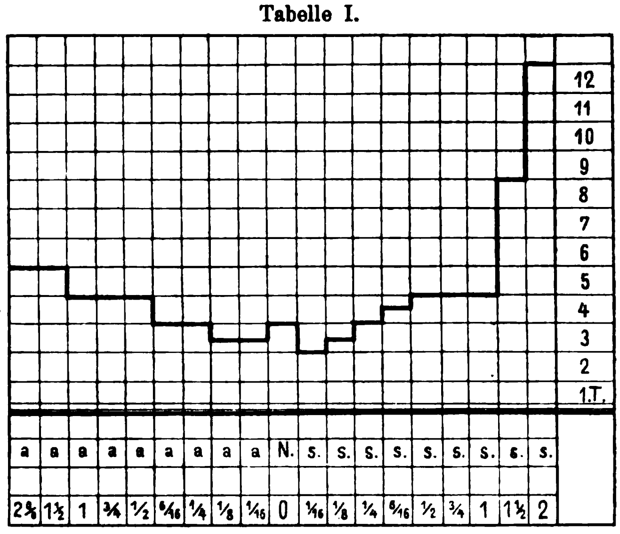
1) Nach mündlicher Mitteilung des Institutsvorstandes Prof Klemensiewicz.

2) Bei den von Kowalsky verwendeten Nährböden findet sich kein Glycerin, aber ein Zusatz von 25 g schwefligsaurem Natron, 9 g phosphorsaurem Kali und 9 g Weinsäure, die in dem im hiesigen Laboratorium bereiteten Lungenagar ohne Nachteil für das Wachstum von Kulturen weggelassen wurden. Diese Mitteilung stammt aus dem Protokolle des hiesigen Laboratoriums, da es mir nicht gelang, einen darauf bezüglichen Literaturverweis aufzufinden.

1/16—2 Proz. Gehalt an Normalalkali und Normalsäure hergestellt. Nach dreimaligem Sterilisieren im Dampftopfe wurde der Agar schief erstarren gelassen und auf die Oberfläche des festgewordenen Nährbodens das Impfmaterial eingerieben. Ich trachtete stets, annähernd gleiche, nicht zu geringe Mengen von Material zu verimpfen. Um in dieser Hinsicht vor groben Irrtümern geschützt zu sein, machte ich stets mehrere gleichartige Parallelversuche.

In allen Röhrchen mit alkalisch reagierendem Agar wuchsen die Kulturen bei 37 ° C in lichtdichter Hülse bald aus — wie dies Tabelle I

Tabelle I.



zeigt —, so daß bei 1/16-proz. Alkaligehalt das Wachstum schon am 2. Tage, bei stärkerem Alkaligrad am 3. und 5. Tage deutlich zu erkennen war. Auf schwach saurem Nährboden zeigte sich erst am 4. Tage das erste Mal deutliches Wachstum, auf den etwas stärkeren sauren Nährböden konnte man erst nach 8—12 Tagen Spuren von Wachstum erkennen. Die Ueppigkeit des Wachstums wurde nach Ablauf von 7, 14 und 21 Tagen kontrolliert. Im allgemeinen wuchsen jene Kulturen am üppigsten aus, die auch zuerst sichtbar geworden waren, doch zeigte sich in dieser Hinsicht keine völlige Regelmäßigkeit, was ich auf die unvollkommene Abschätzung der verimpften Quantitäten zurückzuführen geneigt bin. Regelmäßig blieb das Wachstum der Kulturen auf Nährböden von 1,5—2-proz. Normalsäuregehalt aus. Um diesen Uebelständen bei der Beurteilung des Wachstumsbeginns und der Ueppigkeit zu begegnen, habe ich die Anzahl der verschieden reagierenden Nährböden in einzelnen Versuchen besonders groß gewählt, ohne daß die Maxima des Säure- oder Alkaligehaltes geändert wurden.

Trotzdem die Kulturen wohlverschlossen aufbewahrt wurden, zeigte sich ein sehr beträchtlicher Wasserverlust, den ich in mehreren Versuchen durch die Wage bestimmte. Das Resultat dieser Untersuchungen ergab nach einem mehrtägigen (bis zu 9 Tagen) Aufenthalt im Brutschrank bei einer Temperatur von 37 ° C einen Wasserverlust im Durchschnitt von 44 Proz. Es ist selbstverständlich, daß anfänglich der Wasserverlust ein größerer und mit zunehmender Dauer des Aufenthalts im Brutschrank ein immer geringerer wird. Diese Bestimmungen habe ich zu

diesem Zwecke unternommen, um zu konstatieren, welchen Einfluß der Feuchtigkeitsgrad auf das Wachstum der Kulturen hat. Aus diesem Grunde war es mir wichtig, einen Versuch anzustellen, der mir eine oberflächliche Einsicht über die Variabilität des Feuchtigkeitsgrades gewährte, wenn der Nährboden unter annähernd denselben Verhältnissen im Brutschrank aufbewahrt wurde, wie man dies bei den Kulturversuchen zu tun genötigt ist.

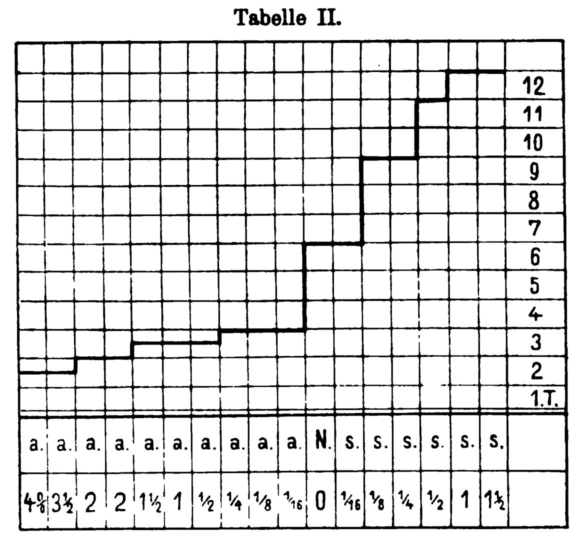
Auf Grund dieser Erfahrungen habe ich bei meinen späteren Versuchen niemals versäumt, den Feuchtigkeitsgrad des Nährbodens bei Beginn der Versuche zu bestimmen und denselben bei der Beurteilung der Resultate des Wachstums zu berücksichtigen.

Was die Reaktionsänderung bei dieser Art von Nährböden anlangt, verweise ich auf die am Schlusse angegebene Tabelle VII, in welcher die zweite horizontale Reihe die gefundenen Werte in Kubikcentimeter $^1/_5$ N.-Flüssigkeit für 20 ccm Nährboden angibt.

2. Kulturen auf Somatoseagar Spengler.

Diesen Nährboden bereitete ich nach Spenglers Vorschrift[1]). Der Nährboden wurde neutralisiert und je 20 ccm in Röhrchen gefüllt. Nach wiederholter dreimaliger Sterilisierung wurde der Nährboden erstarren gelassen. Er war bräunlichgelb, fast durchsichtig. Um das Wachstum der Bacillen bei verschiedenem Säure- und Alkaligrad zu prüfen, versetzte ich denselben, wie dies bei dem Lungenagar beschrieben wurde, mit entsprechenden Quantitäten von Säure resp. Alkali. Nebst einem neutralen Nährröhrchen bereitete ich mir auf diesem Wege Nährröhrchen, die $^1/_{16}$, $^1/_8$, $^1/_4$, $^1/_2$, 1, $1^1/_2$, $2^1/_2$, 3, $3^1/_2$ und 4 Proz. Normal-NaOH resp. $^1/_{16}$, $^1/_8$, $^1/_4$, $^1/_2$, 1, $1^1/_2$ Proz. Normal-H_2SO_4 enthielten. Nach dreimaliger Sterilisierung ließ ich den Nährboden wieder erstarren, und nach Impfung behandelte ich die Nährröhrchen ebenso, wie dies bei Lungenagar geschah. Wie aus Tabelle II zu ersehen ist, konnte ich schon in $1^1/_2$ Tagen das Gedeihen der Kultur auf 4-proz. und $3^1/_2$-proz. alkalisch

Tabelle II.



1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. p. 30; Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenw. Bd. VI. Heft 4. p. 342.

reagierendem Nährboden beobachten. 1—2 Tage später zeigte sich auch auf dem anderen ebenfalls alkalisch reagierenden Inhalt der Röhrchen ein Wachstum. Viel später geschah das auf dem neutralen und sauer reagierenden Nährboden.

Auch hier zeigten wie bei Lungenagar meistenteils diejenigen Kulturen das üppigste Gedeihen, die am frühesten angegangen waren.

Die Vegetation auf diesen Nährböden kann als eine im allgemeinen wenig üppige bezeichnet werden.

Ebenso wie bei dem Lungenagar, bestimmte ich auch hier den Feuchtigkeitsgrad und auch den Feuchtigkeitsverlust der 24, 72, 120, 168 und 216 Stunden im Brutschrank gehaltenen Nährböden. Der Feuchtigkeitsverlust war in diesem Versuche nur 33 Proz. von einem ursprünglichen Gehalte von 94,69 Proz. H_2O des Nährbodens ausgehend (Lungenagar hatte 98,72 Proz. ursprünglichen Feuchtigkeitsgehalt).

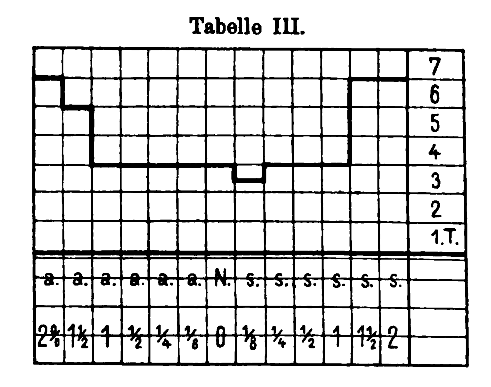
Was die Reaktionsänderung bei dieser Art von Nährböden anlangt, verweise ich auf die am Schlusse beigefügte Tabelle VII, in welcher die dritte horizontale Reihe die gefundenen Werte in $^1/_5$ N.-Flüssigkeit für 20 ccm Nährboden angibt.

3. Kulturen auf Sputumagar Ficker[1]).

Die Zusammenstellung war folgende: Dreimal je eine Stunde lang im Dampftopf sterilisiertes, ziemlich bacillenreiches Sputum, Bouillonagar āā partes mit Volumenprozenten Glycerin vermischt. Von dem Gemisch wurden je 4 g in eine Eprouvette zum Kulturversuche gegossen. Der Nährboden ist flockig getrübt. Durch Titrierung bereitete ich nebst einem neutralen noch $^1/_8$, $^1/_4$, $^1/_2$, 1, $1^1/_2$ und 2 Proz. Normal alkalisch und ebenso sauer reagierende Nährröhrchen. Nach wiederholter dreimaliger Sterilisierung wurde erstarren gelassen und geimpft.

Das täglich kontrollierte Wachstum ist in Tabelle III registriert.

Tabelle III.



In $2^1/_2$ Tagen war auf $^1/_{16}$ N.-H_2SO_4-saurem Nährboden die Kultur angegangen. Am spätesten, den 6. Tag, entwickelten sich die Kulturen auf den $1^1/_2$-, 2-proz. N.-H_2SO_4 und 2-proz. N.-NaOH reagierenden Nährböden.

Im großen und ganzen entwickelten sich aber auf alkalisch reagierendem Boden die Kulturen fast so gut wie auf saurem. Die Ueppigkeit nach 8—21-tägigem Wachstum war am besten auf dem schwach ($^1/_{16}$ normal) sauren, gut auf dem alkalischen und am wenigsten auf dem stark sauer reagierenden Boden. Die Vegetation auf diesem Nährboden war fast so gut wie auf dem Lungenagar. Der Nachteil dieses Nährbodens ist dessen mangelhafte Transparenz, wodurch die Entwickelung der Kultur schwer erkennbar ist. Beim Bestimmen des Feuchtigkeitsgrades und Feuchtigkeitsverlustes der einzelnen Nährböden war das Resultat ähnlich wie in denen bei Lungenagar und Somatoseagar, nur war der Feuchtigkeitsgrad zu Beginn größer als bei

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII. p. 507.

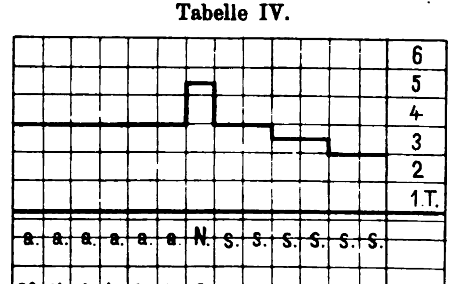
dem Somatoseagar (95,15 Proz.) und der Verlust nach 218 Stunden 35,35 Proz.

Bei der Titrierung, die ebenso geschah wie beim Lungenagar, konnte man, wie es auch die vierte horizontale Reihe der am Schlusse beigefügten Tabelle VII zeigt, am 1. Tag alkalische, am 2. und 3. Tag saure und an den folgenden Tagen wieder alkalische Reaktion in den Nährröhrchen konstatieren.

4. Kultur auf Eiernährboden Dorset.

Ich benützte die von Sorgo angegebene Modifikation[1]. In jede Eprouvette wurde 5 g des Nährbodens gefüllt und auf 1/8, 1/4, 1/2, 1, 1 1/2 und 2 Proz. Gehalt von Normal-NaOH und Normal-H_2SO_4 gebracht. Die so verfertigten Nährröhrchen sterilisierte ich dreimal, jedesmal eine Stunde lang bei 58° C. Zum Erstarren brachte ich die Nährsubstanz bei 70—80° C. Wegen der Verhütung des Austrocknens gab ich nach Sorgos Vorschrift in jedes Nährröhrchen einen Tropfen destillierten Wassers und sterilisierte noch dreimal. Der Nährboden war gelb, sah aus wie erstarrte Rühreier. Nach Impfung entwickelten sich, wie Tabelle IV zeigt, die Kulturen schon am 2. Tage auf dem 1 1/2- und 2-proz. sauer reagierenden Nährböden. Am 3. Tage entwickelten sich die Kulturen auf dem alkalisch reagierenden und am spätesten, am 5. Tage auf dem neutral reagierenden Substrat.

Tabelle IV.



Die Kulturen auf dem stark sauer reagierenden Substrat wuchsen am üppigsten in den schwach sauren neutralen und in den schwach alkalischen am wenigsten üppig. Trotzdem die Kulturen bei den Eiernährböden schon am 2. Tag angingen, ist dieser Nährboden wegen der leichten Gerinnbarkeit, wegen der geringen Feuchtigkeit (siehe unten), wegen der schwachen Kulturvegetation und weil die Kulturen nur schwer zu unterscheiden sind, nicht sehr zu empfehlen.

Der Feuchtigkeitsgrad dieses Nährbodens ist im Verhältnis zu den übrigen geringer, dementsprechend auch der Wasserverlust im Verlaufe einer etwa 9 Tage andauernden Kulturperiode ein nicht so bedeutender als bei den bisher besprochenen Nährmedien. Um einen Ueberblick zu dieser Versuchsanordnung zu gewähren, gebe ich hier die Werte an, welche ich nach der eingangs beschriebenen Methode gewonnen habe.

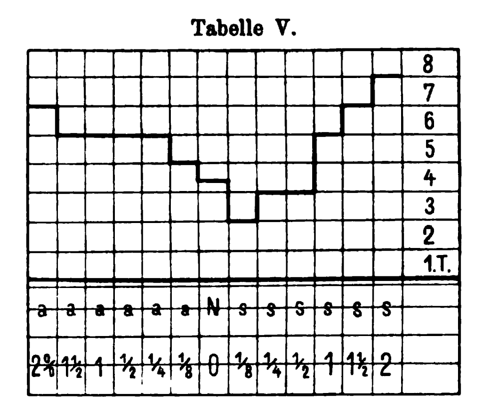
Der Feuchtigkeitsgrad des Normalnährbodens	65,61
Der Feuchtigkeitsgrad des Nährbodens, welcher 24 Stunden im Brutschrank war	57,52
" " " " " 72 " " " "	57,34
" " " " " 120 " " " "	56,54
" " " " " 168 " " " "	52,83
" " " " " 216 " " " "	52,81
Der Feuchtigkeitsverlust des 24 Stunden im Brutschrank weilenden Nährbodens	8,09
" " " 72 " " " " "	8,27
" " " 120 " " " " "	9,07
" " " 168 " " " " "	12,78
" " " 216 " " " " "	13,80

1) Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenw. Bd. VI. Heft 4. p. 34.

5. Kulturen auf Sputum-Lungen-Glycerinagar.

Dieser Nährboden besteht aus einem Gemisch von 50 g Lungenagar, 50 g bacillenreichem Sputum, 3 g Agar-Agar, 0,50 g Kochsalz, 0,50 g Traubenzucker, 12 g Glycerin, 1 g Pepton und 200 g Wasser; das Ganze wurde viermal aufgekocht, dann eine Stunde langsam gekocht, warm filtriert und zu 4 g in Eprouvetten gegossen. Nachdem ich die Nährröhrchen auf $^1/_8$, $^1/_4$, $^1/_2$, 1, $1^1/_2$ und 2 Proz. normal, alkalische und saure Reaktion titrierte, sterilisierte ich sie dreimal und ließ sie erstarren, Nach Impfung der leicht gelblich gefärbten und durchsichtigen Nährböden behandelte ich sie in der schon erwähnten Weise. Wie die Tabelle V zeigt, entwickelte sich schon nach 2 Tagen im Röhrchen mit der Signatur „$^1/_8$ N. sauer“ die Tbc.-Kultur; am spätesten, am 7. Tage, wuchs die Kultur auf dem 2-proz. sauren Boden. Am üppigsten wuchsen diejenigen Kulturen, die am frühesten angegangen waren.

Tabelle V.



Das Wachstum der Kulturen war besonders im Anfang kaum weniger üppig als am Lungenagar. Der Feuchtigkeitsgrad und der Feuchtigkeitsverlust der einzelnen Nährröhrchen war folgender:

Der Feuchtigkeitsgrad des Normalnährbodens	93,44
Der Feuchtigkeitsgrad des Nährbodens, welcher 24 Stunden im Brutschrank weilte	90,26
„ „ „ „ „ 72 „ „ „ „	73,91
„ „ „ „ „ 120 „ „ „ „	71,80
„ „ „ „ „ 168 „ „ „ „	68,00
„ „ „ „ „ 216 „ „ „ „	36,04
Der Feuchtigkeitsverlust des 24 Stunden im Brutschranke weilenden Nährbodens	3,18
„ „ „ 72 „ „ „ „ „	19,53
„ „ „ 120 „ „ „ „ „	21,63
„ „ „ 168 „ „ „ „ „	25,44
„ „ „ 216 „ „ „ „ „	57,40

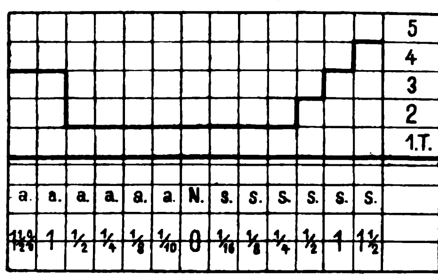
Die Titrierung der auf neutralen Nährböden angelegten Kulturen ergab, wie die in der fünften horizontalen Linie der am Schlusse angegebenen Tabelle VII zu sehen war, am 1. und 3. Tage eine alkalische, am 6. Tage eine saure und an den 14- und 21-tägigen Kulturen eine alkalische Reaktion.

6. Kulturen auf Tuberkulose-Lungenagar.

Zu diesem Nährboden verwendete ich Tuberkelbacillenkulturen, die auf Lungenagar gezüchtet waren. Ich sterilisierte das ganze Material 5 Tage hindurch, jedesmal 2 Stunden, und nach Neutralisierung goß ich davon in jedes Röhrchen 20 g. Nach Titrierung dieser Nährröhrchen auf $^1/_{16}$, $^1/_8$, $^1/_4$, $^1/_2$, 1, $1^1/_2$ Proz. Normal-H_2SO_4 und Normal-NaOH sterilisierte ich sie noch dreimal. Der Nährboden war dunkelbraun, durchsichtig und mit weißgelben, von den alten Kulturen herstammenden Bröckelchen durchsetzt. Auf diesem Nährboden zeigten sich schon am 1. Tage (siehe Tabelle VI) eine Entwickelung von Kultur und zwar auf den $^1/_{16}$, $^1/_8$, $^1/_4$ Proz. sauren und den $^1/_{16}$, $^1/_8$, $^1/_4$, $^1/_2$ Proz. alkalisch

reagierenden Substraten. Am spätesten, etwa am 4. Tage, entwickelte sich in dem 2-proz. sauer reagierenden Nährmedium die Kultur. Im Kontrollrohre, welches neutral reagierende Nährböden enthielt, wuchs bis zum 21. Tage keine Kultur aus.

Tabelle VI.



Der Ueppigkeitsgrad der Kulturen war harmonierend mit der Reihenfolge der Entwickelung. Die Vegetation der Kulturen war ganz gut, doch erreichte sie weder die Ueppigkeit der Kulturen auf Sputum-Glycerinagar, Sputumagar (Ficker) oder Lungenagar.

Die in dem Nährboden vorhandenen Bröckelchen der alten Kulturen erschwerten hier und da das Erkennen der frischen Kolonieen.

Der Feuchtigkeitsgrad und der Feuchtigkeitsverlust der einzelnen Nährböden war so wie bei Lungenagar.

Die Titrierung der an neutralen Nährböden angelegten Kulturen ergab an der 1-tägigen Kultur eine alkalische, an der 3- und 5-tägigen eine saure und an den 7- und 9-tägigen eine alkalische Reaktion. (Am Schlusse angegebene Tabelle VII, Horizontalreihe 6.)

Die Kolonieen zeigten auf allen Nährböden, mit Ausnahme des Somatoseagars, ein ziemlich ähnliches Aussehen. Im Anfang entstanden unregelmäßig geformte, weißgelbliche, glanzlose oder mattglänzende Auflagerungen, die später höckerig wurden. Bei sehr üppiger Vegetation, besonders bei älteren Kulturen, trat eine gelbe bis gelbbraune, sogar ins Orange spielende Färbung auf. Auf Somatoseagar war, wie gesagt, die Entwickelung der Kolonieen anders. Im Anfange entstanden kleine runde, graue, matte oder schwach glänzende, schuppenförmige Kolonieen, die sich später zu krümeligen oder runzeligen Belägen ausbildeten.

Aus meinen beschriebenen Versuchen ist zu ersehen:

1) daß die Ueppigkeit des Wachstums der Tuberkelbacillen auf verschiedenen Nährböden verschieden ist. Am besten wuchsen sie auf Lungenagar, dann auf Sputumagar, Sputumlungenagar, Tbc.-Lungenagar; weniger gut auf Eiernährboden und auf Somatoseagar.

2) Die Tuberkelbacillen entwickelten sich am besten und schnellsten auf den ganz schwach sauren, ziemlich gut auf den schwach sauren, neutralen und alkalischen, schlecht aber auf den stark sauren Nährböden. Eine Ausnahme machte der Somatoseagar und der Eiernährboden. Auf ersterem gediehen sie am besten und schnellsten auf den stark alkalischen, schlechter auf schwach alkalischen und am schlechtesten auf den sauren Nährböden. Auf Eiernährböden wuchsen die Kulturen auf dem stark sauren am besten, weniger gut auf dem stark alkalischen, schwach auf dem neutralen Boden.

Bei diesen Untersuchungen halte ich einen Zufall für ausgeschlossen, da bei den meisten Kulturen die Schnelligkeit ihrer Entwickelung mit der Ueppigkeit der Vegetation harmonierte.

3) Das Wachstum war stets auf den feuchtesten Nährböden am üppigsten, z. B. auf Lungenagar; am schlechtesten auf Eiernährboden, welcher die wenigste Feuchtigkeit besaß.

4) Es ist anzunehmen, da durch Titrierung zu ersehen war, daß die

Reaktion an neutral angelegten Nährböden nach mehrtägigem Gedeihen der Kulturen verschieden war, daß die Tuberkelbacillen durch ihre Vegetation einen Umschlag der ursprünglichen Reaktion des Nährsubstrates bewirkten. Ein solcher Umschlag erfolgte in jeder Versuchsreihe zweimal. Bei allen titrierbaren Nährböden, mit Ausnahme des Somatoseagars, in der Weise, daß anfänglich alkalische, dann saure und endlich wieder alkalische Reaktion auftrat. Bei Somatoseagar war das Umgekehrte zu konstatieren.

Zum Schlusse möchte ich noch einen Versuch anführen, bei dem es mir gelungen ist, in 48 Stunden aus Sputum virulente Reinkultur auf Tuberkulose-Lungenagar zu züchten. Dieser Versuch gelang mir in zwei Fällen mit dem Sputum Tuberkulöser. Das Verfahren, was ich einschlug, war folgendes: Das an Tuberkelbacillen reiche Sputum spülte ich 10—14mal in lauwarmer physiologischer Kochsalzlösung ab; löste die charakteristischen Klümpchen heraus und impfte diese auf die mit Tuberkulose-Lungenagar gefüllten Röhrchen. Nach 24 Stunden, bei 37° C gehalten, wuchsen die Kulturen aus. Unter dem Mikroskop zeigten sich Tuberkelbacillennester mit Kokken und anderen Bacillen untermischt. Von dem untersuchten Herde wurde ziemlich viel in Peptonwasser aufgeschwemmt. Von dieser Aufschwemmung machte ich Verdünnungen auf andere Peptonröhrchen und zwar in der üblichen Weise eine 5—6-fache Verdünnung stets eine Oese voll übertragend. Von der letzten Verdünnung wurden in eine Petri-Schale, die mit Tuberkulose-Lungenagar beschickt war, Uebergüsse — Uebergußplatten — gemacht. Nach 24 Stunden waren stets Reinkulturen von Tuberkelbacillen zu konstatieren. Der mikroskopische Befund mit Ziehl-Neelsen ergab ausschließlich Tuberkelbacillen. Das Tierexperiment am Meerschweinchen bestätigte den mikroskopischen Befund. Das Tier ging 6 Wochen nach der Impfung ein. Die Sektion ergab ausgedehnte Knötchentuberkulose an den meisten Organen.

Tabelle VII.

Die neutral angelegten Kulturen reagierten nach der Impfung	am 1. T.	am 2. T.	am 3. T.	am 4. T.	am 5. T.	am 6. T.	am 7. T.	am 8. T.	am 9. T.	am 10. T.	am 14. T.	am 18. T.	am 21. T.	am 29. T.	am 44. T.
bei Lungenagar	0.03 a.	0.05 s.	0.04 s.	0.01 s.	0.01 a.	0.03 a.	0.05 a.	0.13 a.	0.12 a.	0.15 a.		0.14 a.			0.15 a.
bei Somatoseagar	0.08 s.	0.02 a.	0.02 a.		0.02 a.		0.04 s.		0.04 s.		0.07 s.			0.02 s.	
bei Sputumagar (Ficker)	0.11 a.	0.08 s.	0.02 s.	0.05 a.	0.02 a.	0.02 a.	0.02 a.	0.02 a.	0.02 a.		0.07 a.		0.09 a.		
bei Sputum-Lungenglycerinagar	0.02 a.		0.18 a.			0.05 s.		0.05 a.			0.07 a.		0.09 a.		
bei Tuberkulosen-Lungenagar	0.07 a.		0.04 s.		0.05 a.		0.15 a.		0.09 a.		0.11 a.				

Es ist selbstverständlich, daß ich bei diesen Versuchen, bei denen im Nährboden sterile Tuberkelbacillen vorhanden waren, eine Kontrolle nicht versäumte. Stets wurden eine Anzahl nicht beimpfter, mit Tuberkulose-Lungenagar beschickter Petri-Schalen gleichzeitig mit den Uebergußschalen in den Brutschrank (37° C) gestellt.

Außerdem sei noch hervorgehoben, daß, wie schon erwähnt, die alte Tuberkelbacillenkultur, die ich zur Herstellung des Nährbodens benutzte, ein Meerschweinchen nie früher als nach der 14. Woche post infectionem tötete. Die aus Sputum gewonnenen Kulturen töteten aber innerhalb 6 Wochen.

Literatur.

1) Nocard et Roux, Sur la culture du bacille de la tuberculose. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. I. 1887. No. 1. p. 19, 29.)
2) Hammerschlag, Ueber bakteriologisch-chemische Untersuchung der Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. V. p. 702.)
3) Martin, H., Note sur la culture du bacille de la tuberculose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. V. p. 830.)
4) Jochmann, Ueber ein neues Anreicherungsverfahren bei der Untersuchung auf Tuberkelbacillen. (Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 22.)
5) Endo, G., Nährboden für Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. p. 741.)
6) Hawthorn, Cultures homogènes du bacille de la tuberculose en eau peptonée. De l'apparition des corpes sphériques ressemblent à de spores sur le bacille tuberculeux, cultivé en eau peptonée. Cultures sur milieux solides du bacille tuberculeux acclimaté dans l'eau peptonée. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. p. 741.)
7) Pawlowsky, Culture des bacilles de la tuberculose sur la pomme de terre. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1888. No. 6. p. 303.)
8) Sander, Ueber das Wachstum von Tuberkelbacillen auf pflanzlichen Nährböden. (Archiv f. Hyg. Bd. XVI. Heft 3.)
9) Tomasczewski, Ueber das Wachstum der Tuberkelbacillen auf kartoffelhaltigen Nährböden. (Zeitschr. f. Hyg.)
10) Dorset, The use of eggs as a medium for the cultivation of Bacillus tuberculosis. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. p. 246.)
11) Hesse, Zur Frage der beschleunigten Züchtung des Tuberkelbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVIII. p. 225.)
12) Sorgo, Ueber Tuberkelbacillenzüchtung aus Sputum und aus Exsudat bei Pleuritis und Seropneumothorax. (Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilstättenw. Bd. VI. Heft 4. p. 335.)
13) Jochmann, gleich wie bei No. 4.
14) Menzi, Beitrag zur Züchtung und Biologie der Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Hyg.)
15) Königstein, R., Ueber Anreicherung der Tuberkelbacillen im Sputum (nach Hesse). (Wiener klin. Wochenschr. 1902. No. 33. p. 839.)
15) Ficker, M., Wachstum der Tuberkelbacillen auf sauren Gehirnnährboden. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. p. 507.)
17) Marchetti, G. e Stefanelli, Sui mezzi nutritivi proposti per la diagnosi bacteriologica rapida della tuberculosi. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. p. 567.)
18) Huellen, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. p. 138.)
19) Proskauer und Beck, Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Tuberkelbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. 1894. p. 128.)
20) Fränkel, C., Zeitschr. f. Hyg.
21) Spengler, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. p. 30.
22) Marpmann, Zur Morphologie und Biologie der Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. p. 582.)
23) Schumorski, Studien an auf eiweißfreien Nährböden gezüchteter Tuberkulose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. p. 155.)
24) Uschinsky, Ueber eine eiweißfreie Nährlösung für pathogene Bakterien, nebst einigen Bemerkungen über Tetanusgift. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. p. 316.)
25) Schweinitz, gleich wie bei No. 24.
26) Ficker, gleich wie bei No. 16.
27) Lubinski, Zur Kultivierungsmethode, Biologie und Morphologie der Tuberkelbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVIII. p. 125.)
28) Phisalix, Le jaune d'œuf comme milieu de culture du microbe de la tuberculose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. p. 650.)
29) Tochtermann, gleich wie No. 20.

Bemerkungen zum Aufsatze von E. Marchiafava und A. Celli „Zur Geschichte der Entdeckung des Micrococcus intracellularis meningitidis".

Von **A. Weichselbaum.**

In dieser Zeitschrift (Bd. XLIII. Heft 2) erschien kürzlich eine Abhandlung von Marchiafava und Celli, deren Tenor in folgenden Sätzen zum Ausdruck kommt:

„Bei der Entdeckung der Aetiologie der epidemischen Genickstarre ist dasselbe vorgefallen wie bei der Entdeckung der Typhusätiologie. Eberth beschrieb den Bacillus, den später Gaffky wiedersah und kultivierte. Eberth ist Gerechtigkeit widerfahren, uns nicht."

Da in einer Fußnote dieser Abhandlung ein Satz aus meinem Artikel über Meningokokken in Kolle und Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. III. p. 258 zitiert und mir hiebei gewissermaßen ein Vorwurf gemacht wird, so sehe ich mich, behufs Klarstellung der ganzen Angelegenheit, zu folgenden Ausführungen veranlaßt:

Als ich im Jahre 1887 in der Zeitschrift „Fortschritte der Medizin". Bd. V. meine Abhandlung über die Aetiologie der akuten Meningitis cerebro-spinalis, bezw. meine Untersuchungen über den Diplococcus intracellularis meningitidis veröffentlichte, war mir die Arbeit von Marchiafava und Celli in der „Gazzetta degli Ospedali", 27. Jänner 1884, nicht bekannt. Als ich sie später zu Gesicht bekam, hielt ich es, wenn auch die morphologische Beschreibung der von den genannten Autoren gesehenen Kokken mit meinem Befunde in manchen Punkten nicht übereinstimmte, und außerdem diese Kokken nicht kultiviert worden waren, doch nicht für ausgeschlossen, daß Marchiafava und Celli den Diplococcus intracellularis meningitidis vor sich gehabt hatten. Deshalb verwies ich bei der nächsten, mir gegebenen Gelegenheit, als ich nämlich für Weyls Handbuch der Hygiene eine kurzgefaßte Abhandlung über die pathogenen Bakterien schrieb, in der Literaturangabe zu dem kurzen Artikel über den Diplococcus intracellularis meningitidis auf die Arbeit von Marchiafava und Celli aus dem Jahre 1884 und sprach mich in dem Artikel selbst dahin aus, daß „wahrscheinlich auch schon Marchiafava die gleichen Kokkeu gesehen haben dürfte"; dieselbe Ansicht äußerte ich bezüglich Leichtensterns, über dessen Untersuchungen ich übrigens schon in meiner ersten Abhandlung im Jahre 1887 berichtet hatte.

In meiner monographischen Bearbeitung der Meningokokken in Kolle und Wassermanns Handbuch widmete ich der Geschichte der Aetiologie der Meningitis ein eigenes Kapitel, in welchem ich chronologisch über die einschlägige Literatur kurz berichtete, daher auch schon die vor der Arbeit Marchiafavas und Cellis erschienenen Publikationen berücksichtigte.

Was die Untersuchungen der eben genannten Autoren selbst betrifft, so ist ihre erst kürzlich ausgesprochene Behauptung, ich hätte ihre Befunde nur mit jenen Worten zitiert, welche sie in der Fußnote zu ihrem Aufsatze anführen, nicht richtig, desgleichen nicht richtig ihre weitere Behauptung, daß ich augenscheinlich nur die Ausnahme hervorgehoben

und überhaupt nicht erwähnt habe, daß sie zuerst die intracellulare Lagerung des Diplococcus der epidemischen Genickstarre in den Exsudatzellen genau festgestellt haben.

Es findet sich nämlich in meiner zuvor erwähnten Arbeit nicht nur die schon von Marchiafava und Celli angeführte Bemerkung, sondern es steht wörtlich noch folgendes: „Erstere (nämlich Marchiafava und Celli) geben an, daß sie 1884 in 2 Fällen von epidemischer Meningitis cerebro-spinalis Mikrokokken im Protoplasma von Leukocyten und von Endothelien gefunden hatten.“ Ich habe also nicht bloß die „Ausnahme“, worunter Marchiafava und Celli offenbar das Vorkommen der Kokken in Endothelien gemeint haben dürften, hervorgehoben, sondern auch ihre Angabe über das Vorkommen der Kokken innerhalb von Exsudatzellen reproduziert.

Weiter zitierte ich eine im Jahre 1888 erschienene Arbeit von Guarnieri und führte an, daß in derselben die Bemerkung vorkommt, daß er in 2 Fällen von Meningitis cerebro-spinalis gonokokkenähnliche, innerhalb von Leukocyten gelegene Diplokokken vorfand, die er mit den von Marchiafava und Celli als „microorganismi gonococciformi“ und mit den von mir als Diplococcus intracellularis beschriebenen Kokken in eine Parallele brachte; mit diesem Zitate wurde somit zum Ausdruck gebracht, daß Marchiafava und Celli eine Aehnlichkeit zwischen ihren Kokken und den Gonokokken wahrgenommen hatten.

Ich glaube also ruhig behaupten zu können, daß ich in meiner früher zitierten Arbeit über die Meningokokken in dem geschichtlichen Teile die wesentlichen Punkte des Kokkenbefundes der beiden italienischen Autoren, das ist die intracellulare Lagerung der Kokken und ihre Aehnlichkeit mit Gonokokken, angeführt, also meiner Pflicht als Historiker vollauf genügt habe; eine ausführlichere oder wörtliche Wiedergabe der Beschreibung der Kokken war weder notwendig, noch mit Rücksicht auf den beschränkten Umfang meines Artikels angezeigt.

Ich glaube aber auch zu der Reserve vollständig berechtigt gewesen zu sein, welche in meinen Ausführungen über die Bedeutung des Kokkenbefundes von Marchiafava und Celli liegt, indem ich es das eine Mal als wahrscheinlich, das andere Mal als möglich erklärte, daß es sich bei den von diesen Autoren beobachteten Kokken um den später von mir aufgefundenen Diplococcus intracell. mening. gehandelt hatte, sowie ich ein gleiches Urteil auch über den Kokkenbefund Leichtensterns abgegeben hatte. Denn abgesehen davon, daß Marchiafava und Celli den von ihnen gesehenen Mikroorganismus nicht kultivierten, also eine für die Charakterisierung einer bestimmten Bakterienart so außerordentlich wichtige Untersuchungsmethode nicht anwendeten, sind in ihrer morphologischen Beschreibung teils Angaben enthalten, welche mit den von mir erhobenen und später von den übrigen Untersuchern bestätigten Befunden nicht übereinstimmen, teils wird gewisser von mir beobachteter Eigenschaften des Diploc. intracell. mening. keine Erwähnung getan, die aber, wie später auch die übrigen Untersucher bestätigten, für die Charakterisierung des genannten Coccus sehr wichtig sind. Marchiafava und Celli gaben nämlich an, daß die von ihnen beobachteten Diplokokken von „etwas ovaler Form“ waren, und daß sie in den Geweben gewöhnlich in kleinen Gruppen lagen. Ich (und nach mir die anderen Untersucher) haben aber als charakteristisch hervorgehoben, daß die Meningokokken, wenn sie zu zwei angeordnet

sind, „sich gegenseitig derart abplatten, daß jeder Coccus eine Halbkugel darstellt“.

Während ferner die beiden italienischen Autoren ihre Kokken, wenn auch selten, auch in Endothelien gefunden haben wollten, konnten weder ich noch andere Untersucher einen gleichen Befund erheben.

Dagegen habe ich schon in meiner ersten Mitteilung angeführt, daß in einem der von mir untersuchten Fälle im Ausstrichpräparate neben den halbkugeligen Diplokokken von gewöhnlicher Größe auch bedeutend größere, ganz kugelige Kokken zu sehen waren, und daß ferner auch in Gewebsschnitten sowie in Kulturen ungleich große und ungleich stark gefärbte Kokken vorkommen, eine Erscheinung, von welcher wir jetzt wissen, daß sie für den Diplococcus intracellularis charakteristisch ist.

Ueber das von mir erwähnte Verhalten der Kokken gegen die Gramsche Methode, welches für ihre Unterscheidung von anderen ähnlichen Kokken ebenfalls wichtig ist, konnten Marchiafava und Celli nichts aussagen, da diese Methode damals noch nicht bekannt war.

Wenn man nun erwägt, daß, wie ich eben auseinandergesetzt habe, die morphologische Beschreibung Marchiafavas und Cellis einerseits in einigen Punkten mit der meinigen nicht übereinstimmt, andererseits unvollständig ist, überdies von den genannten Autoren keine Kulturen angelegt worden waren, so kann man doch unmöglich mit Sicherheit die Identität der von den italienischen Autoren beobachteten Kokken mit den von mir beschriebenen behaupten.

Die intracelluläre Lagerung der von Marchiafava und Celli gesehenen Kokken, welcher diese Autoren jetzt einen so großen Wert beilegen, genügt noch nicht, um ohne weiteres eine Identität dieser Kokken mit den von mir beschriebenen anzunehmen. Denn wie wir jetzt wissen, können auch andere Kokken als der Dipl. intrac., wie der Dipl. pneum., der Staphylococcus pyogenes, und zwar durchaus nicht so selten innerhalb von Zellen angetroffen werden, und da die zuvor genannten Autoren ihren Kokken eine „etwas ovale Form“ beilegten und auch nicht angaben, daß sie vorwiegend innerhalb von Zellen gefunden wurden, so konnte man auch an den Pneumoniecoccus denken, um so mehr als derselbe tatsächlich bei Meningitis cerebro-spinalis beobachtet werden kann. Allerdings stimmt hiermit nicht die Angabe, daß in Schnittpräparaten die betreffenden Kokken „gewöhnlich in kleinen Gruppen“ angeordnet waren, was ja wieder auf Staphylokokken, jedenfalls aber nicht auf den Diplococcus intracellularis deuten würde.

Selbst die von den beiden Autoren angegebene Aehnlichkeit einiger Präparate mit Präparaten von Gonorrhöeeiter berechtigt noch nicht zur Annahme, daß es sich hiebei sicherlich um den Dipl. intrac. gehandelt hatte; denn die genannten Autoren dachten offenbar nicht etwa wegen der Form der Kokken, sondern wegen ihrer intracellularen Lage an eine Aehnlichkeit mit Gonokokken.

Ich kann somit der von Marchiafava und Celli erst kürzlich aufgestellten Behauptung, es sei „zweifellos festgestellt, daß sie zuerst die gonokokkenartigen Mikrokokken der Genickstarre gesehen und beschrieben haben“, nicht beipflichten.

Dem ist noch hinzuzufügen, daß auch die übrigen Forscher, die sich eingehend mit der Aetiologie der Men. cer.-spin. epid. beschäftigt haben, wie Jäger, Councilman, Mallory und Wright, Bettencourt,

v. Lingelsheim, bezüglich des Kokkenbefundes von Marchiafava und Celli sich entweder in ähnlicher Weise wie ich ausgesprochen oder desselben gar nicht Erwähnung getan haben.

Was den schließlichen Hinweis der beiden italienischen Autoren auf die Entdeckung des Typhusbacillus anbelangt, so wird wohl jeder objektive Beurteiler der Sachlage zugeben müssen, daß dieser Hinweis kein zutreffender ist. Man vergleiche doch nur die bloß auf 2 Fälle gestützte, ungenaue und unvollständige morphologische Beschreibung der von Marchiafava und Celli gesehenen Kokken, von welchen sie selbst bloß als wahrscheinlich annahmen, daß sie mit der Meningitis in Beziehung standen, mit der auf 40 Typhusfälle und eine Anzahl von Kontrolluntersuchungen basierten, sehr eingehenden und durch instruktive Abbildungen unterstützten Beschreibung des Typhusbacillus durch Eberth, welcher auch die spezifische Bedeutung der von ihm gesehenen Bacillen behauptete, und man wird unschwer nicht nur den bedeutenden Unterschied zwischen diesen beiden Darstellungen erkennen, sondern auch den sicheren Eindruck gewinnen, daß Eberth wirklich den Typhusbacillus gesehen und auch richtig beschrieben und abgebildet hatte, während ein gleiches von den beiden italienischen Autoren bezüglich des Dipl. intrac. mening. nicht behauptet werden kann.

Zum Schlusse muß ich es als ganz unverständlich erklären, weshalb Marchiafava und Celli, wenn sie wirklich fest überzeugt waren, daß sie den Dipl. intrac. vor sich gehabt hatten, erst jetzt, d. i. 23 Jahre nach ihren und 20 Jahre nach meinen diesbezüglichen Untersuchungen, diese ihre Ueberzeugung zum Ausdruck bringen, da doch die Frage der Aetiologie der epidemischen Genickstarre nicht erst seit gestern, sondern schon seit einer Reihe von Jahren in lebhaftester Weise diskutiert wurde und gegenwärtig, soweit sie sich auf das morphologische und kulturelle Verhalten des Krankheitserregers bezieht, bereits zum Abschlusse gebracht ist.

Zur Frage der Krebsgifte.

[Königliche medizinische Klinik zu Genua. Institut für Infektionskrankheiten. (Direktor Prof. Maragliano.) Abteilung des Prof. Bruschettini.]

Von Prof. Dr. **Bruschettini** und Dr. **A. Barlocco.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

In No. 89 (7. November 1906) der Presse médicale berichten Girard Mangin und H. Roger über einige experimentelle Untersuchungen über die Krebsgifte. Sie stellten sich aus frischen Geschwülsten Emulsionen in 7-proz. physiologischer Kochsalzlösung her und injizierten sie innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Geschwulstentnahme Kaninchen intravenös (in wenigen Fällen auch subkutan und intraperitoneal). Der Tod der Tiere trat dann in sehr kurzer Zeit ein (im allgemeinen unmittelbar oder nach wenigen Stunden unter Erscheinungen von Atemstillstand und Krämpfen; waren diese Substanzen subkutan injiziert worden, so überwogen die paralytischen Erscheinungen)

Diese Gifte sollten nach der Ansicht der Verfasser kolloidaler Natur, mit Alkohol fällbar und nicht dialysierbar sein; sie würden also den Bakterientoxinen nahestehen. Die kleinsten, von den Verfassern festgestellten tödlichen Dosen betragen 0,9 g pro Kilogramm Tier für den unmittelbar und 0,14 g pro Kilogramm Tier für den in 24 Stunden erfolgenden Tod. Man kann darauf rechnen, daß man mit 80 g Geschwulst 95 g Extrakt erhält. Die untersuchten Geschwülste waren Epitheliome und Brustdrüsensarkome von Hündinnen und Frauen.

Da wir seit einiger Zeit über diesen Gegenstand arbeiten, und zwar nicht nur, um die mehr oder weniger große Giftigkeit der malignen Geschwülste festzustellen, sondern vielmehr, um besonders die organische Reaktion verschiedener Tierspecies den malignen Geschwülsten des Menschen gegenüber zu verfolgen, so ist es natürlich, daß wir zur Anstellung von Versuchen Gelegenheit gehabt haben, die in ihren Grundlinien den Experimenten der erwähnten Verfasser entsprechen. Da nun die Resultate beträchtlich variieren, so halten wir eine kurze Mitteilung für angebracht.

Wir wollen uns auf die beim Kaninchen erhaltenen Resultate beschränken, das auch von M. und R. zum Versuchstiere gewählt worden war. Die Technik zur Gewinnung des Tumorenextraktes war die gleiche, nur war die physiologische Kochsalzlösung 8-proz. Die Einverleibung des Giftes geschah auf intravenösem, subkutanem, intrapleuralem und intraperitonealem Wege. In einer Reihe von Versuchen haben wir durch Berkefeld-Kerzen filtriertes Extrakt angewandt, und wir wollen hier gleich bemerken, daß die Resultate denjenigen gleichgestellt werden können, welche wir mit einfachem Extrakte erhalten haben. Wir wollen noch hinzufügen, daß wir bei einigen Untersuchungen mit den drei letzten Modalitäten auch grobe Emulsionen der Geschwulst verwandt haben (die Krebszellen waren deutlich sichtbar)[1]).

Wir wollen hinzufügen, daß in einigen Versuchen die Injektion des Extraktes nach einigen Tagen auch auf intravenösem Wege wiederholt wurde, sonst folgte auf die erste intravenöse Injektion (im Abstande von 8 Tagen) eine stärkere intraperitoneale, manchmal ging aber auch der Injektion um einige Minuten eine intravenöse oder subkutane Injektion von Krebsmaterial voraus, das ungefähr 24 Stunden im Organismus einer verwandten Tierspezies verweilt hatte, ein Material, welches, wie aus Kontrollversuchen hervorging, eine deutliche Reaktion hervorrief.

Wir halten es für angebracht, aus unseren Protokollen, die wir bei der Originalarbeit veröffentlichen wollen, die hauptsächlichen Ergebnisse wiederzugeben, da sie in einigen Punkten von denen der obenerwähnten Verfasser abweichen.

Alle unsere Tiere, denen das erste Mal auf intravenösem Wege 1 ccm Extrakt und in den folgenden Malen größere Dosen (2—10 ccm in 5—20 Tagen Abstand von der ersten Injektion) auf intravenösem, subkutanem und intraperitonealem Wege injiziert worden waren, blieben ohne Ausnahme nicht nur am Leben, sondern zeigten auch in ihrem Allgemeinzustande und in ihren Temperaturverhältnissen keine Veränderungen.

---

1) Auf den Einwand, daß wir mit diesem Verfahren das eventuelle giftige Prinzip nicht in Freiheit gesetzt haben, erwidern wir, daß die Anzahl der Zellen nur gering ist, welche bei der einfachen Zerreibung wirklich zerstört werden; wichtiger ist es dagegen, daß die Untersuchung des pleuralen und peritonealen Exsudates, die wir nach 24 Stunden und noch nach längerer Zeit vorgenommen haben, uns die vollkommene Auflösung der Zellen selbst bewies.

Die einzige organische Veränderung, die man beobachten konnte, war eine intensive Mononukleose bei den Tieren, die mit dem ursprünglichen Extrakte behandelt worden waren; bei den Tieren dagegen, die mit ursprünglichem Extrakt + dem wie oben präparierten Material behandelt worden waren, trat eine deutliche Polynukleose auf. Wir wollen einfach die Tatsache berichten, ohne uns vorläufig auf irgendwelche Erklärungen einzulassen.

Wir wollen auch erwähnen, daß es Borrel im Jahre 1903 bei Versuchen zur Gewinnung eines Krebsheilserums gelang, einem Schafbocke 100 g eines Tumors, die in 500 ccm Wasser emulgiert worden waren, subkutan zu injizieren, ohne daß dadurch irgendwelche Störungen hervorgerufen wurden.

Ueber Impfversuche mit Kohlkrebsparasiten.

[Aus der Universitäts-Frauenklinik Berlin.]

Von Dr. **E. Saul.**

Mit 7 Figuren.

Die mitzuteilenden Experimente stellen die Fortsetzung meiner früheren Veröffentlichungen dar. Vergl. Dtsch. med. Wochenschr. 1904. No. 14. p. 494 ff.; ebenda. 1906, No. 17. p. 697 ff.; Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 14. p. 406; Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLII. 1906. Heft 6.

Nach Podwyssotzkis[1]) Schilderung treten bei Meerschweinchen, die mit Kohlkrebsstücken subkutan geimpft sind, 15—18 Tage nach der Impfung um die implantierten Kohlkrebsstücke Tumoren auf, die er als Riesenzellensarkome oder Endotheliome bezeichnen zu können meinte. Behla[2]) erzeugte durch Impfungen mit Kohlkrebsparasiten Granulationsgeschwülste, während die gleichen Experimente von Prowazek[3]) sowie diejenigen von W. Löwenthal[4]) ein negatives Ergebnis zeitigten.

Ich konnte feststellen, daß ältere Meerschweinchen (Gew. 250—300 g) gegen die subkutane Impfung mit Kohlkrebs sich völlig refraktär verhalten. Die Erscheinungen an der Impfstelle gehen über das Maß einer Fremdkörperwirkung nicht hinaus. Exstirpiert man die Implantationsstelle, ehe das verimpfte Kohlkrebsstück völlig resorbiert ist, so findet man dasselbe von gewuchertem Bindegewebe eingeschlossen. In den Resten des implantierten Kohlkrebsstückes sowie in den angrenzenden Teilen des tierischen Gewebes können die Parasiten des Kohlkrebses nachgewiesen werden, wenn man die Präparate frisch untersucht; indessen sind dieselben nach vorangegangener Fixierung und Färbung selbst in den Resten des implantierten Kohlkrebsstückes nicht mehr wahrnehmbar. Allgemeinerscheinungen, wie Abmagerung und Durchfälle, die man bei experimentell erzeugten Protozoenkrankheiten häufig

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900.
2) Die parasitäre Ursache des Krebses. Berlin 1903.
3) Berichte aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. 1905.
4) Zeitschr. f. Krebsforschung. 1905.

Infolge eines Irrtumes ist meiner in Heft 6. Jahrg. 1906 des Centralbl. f. Bakt. etc. veröffentlichten Mitteilung die Anmerkung „Aus dem pathologischen Institut" hinzugefügt worden.

beobachtet, treten bei älteren Meerschweinchen infolge der Impfung niemals auf. Dagegen sind junge Meerschweinchen (Gew. 120—150 g) gegen die Impfung mit Kohlkrebs außerordentlich empfindlich. Sie erliegen derselben nach 2—3 Tagen; ihre Sektion bietet den Eindruck einer akuten Vergiftung. Man findet ein geringes Exsudat der Bauchhöhle, das gelegentlich hämorrhagisch gefärbt ist, und starke Füllung der mesenterialen Blutgefäße. — Bei den Impfversuchen, die sich auf Ratten erstreckten, verwendete ich Aufschwemmungen von Kohlkrebsparasiten, die subkutan am Rücken injiziert wurden (pro Ratte

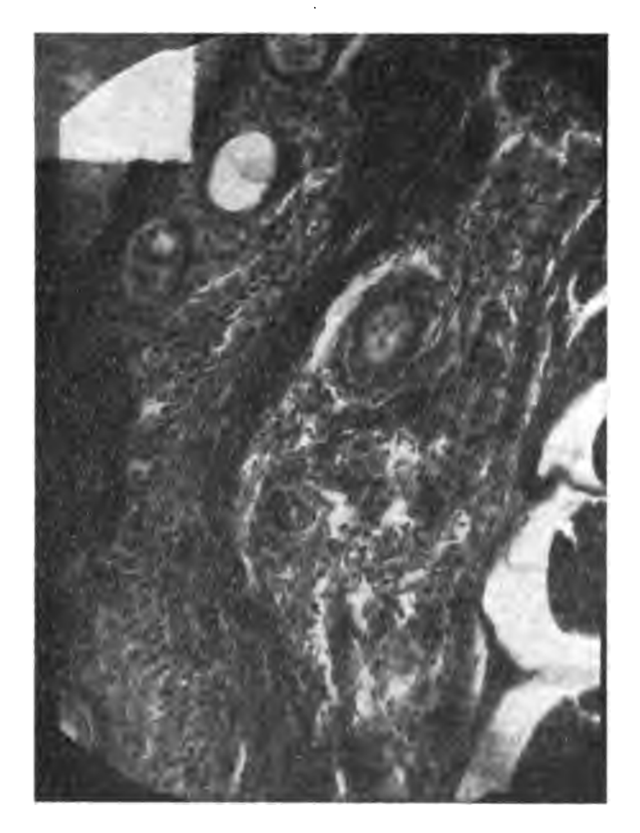


Fig. 1. Gefäßthrombosen; Wucherungen der Gefäßendothelien; Lymphocytenherde. Querschnitt durch den gangränösen Schwanz einer Maus. Vergr. 1:800.

2 ccm). Die Ratten reagierten gegen die Impfung mit Abmagerung, ohne daß an der Impfstelle oder an einem anderen Teile des Körpers Lokalisationen wahrnehmbar wurden. Zwei von 4 in dieser Weise geimpften Ratten, bei denen die Abmagerung am deutlichsten hervortrat, wurden 4 Monate nach der Impfung getötet, da sie auch durch ihr struppiges Fell und ihre Trägheit einen kranken Eindruck machten. Bei der Sektion fand ich im Mesenterium der einen Ratte nahe der Radix mesenterii einen halbhaselnußgroßen Tumor, der den angrenzenden Organen nicht adhärent war, prall-elastische Konsistenz und glatte Oberflächen zeigte. Nach dem mikroskopischen Befunde handelte es

sich um eine Granulationsgeschwulst lymphatischen Charakters mit zentraler Erweichung. — Die zweite Ratte bot für die makroskopische Betrachtung bei der Sektion keinen besonderen Befund. Die mikroskopische Untersuchung der Nieren ergab das Bild einer chronischen interstitiellen Nephritis; am erheblichsten war die Pars corticalis betroffen, während das Parenchym der Nieren völlig intakt erschien. In den Lungen wurden ausgedehnte lymphatische Wucherungen nachgewiesen, welche stellenweise in die Muscularis der Bronchialwand vorgedrungen und zum Teil bindegewebig organisiert waren.

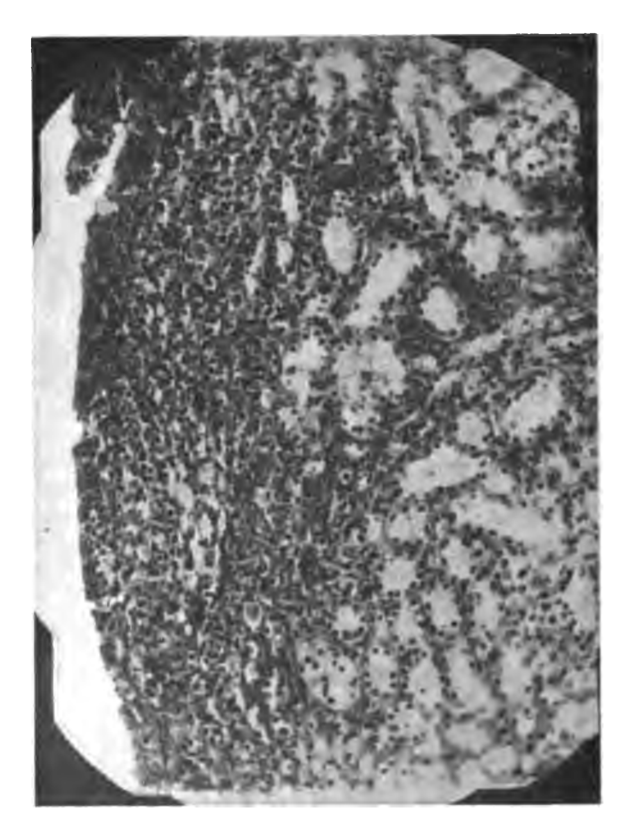


Fig. 2. Interstitielle Bindegewebswucherungen und lymphatische Granulationsmassen. Rattenniere; Pars corticalis. Vergr. 1:800.

In den nächsten Versuchen sollte ermittelt werden, ob das Zusammenwirken von 2 Geschwülsten parasitären Ursprunges, von denen die eine dem Pflanzen-, die andere dem Tierreiche angehört, einen Einfluß auf das Uebertragungsexperiment im Rattenversuche zeigt. Zu diesem Zwecke erhielten je 3 alte und je 3 junge weiße Ratten subkutan am Rücken je 2 ccm einer Aufschwemmung von Kohlkrebsparasiten, welcher Partikel von Botryomykose eines Pferdes beigemengt waren. Die jungen Ratten starben nach 3 resp. 5 Tagen; die Ursache ihres Todes wurde nicht ermittelt. Von den alten Ratten endete eine 11 Tage nach der Impfung; sie zeigte ausgedehnte Blutungen im Dünndarm. Die anderen (alten)

Ratten erschienen bei anfänglicher Abmagerung 2 Monate nach der Impfung völlig gesund. Es wurde ihnen nun je ein etwa 1 ccm großes Kohlkrebsstück subkutan am Rücken implantiert. In der Folge erschienen die Tiere beständig feucht und struppig; sie magerten rapide ab und starben nach 28 resp. 36 Tagen, ohne daß die Sektion die Todesursache aufgeklärt hätte. Die mikroskopische Untersuchung der Nieren und der Lungen war bedauerlicherweise unterlassen worden.

Während Meerschweinchen und Ratten die Impfung mit Kohlkrebs an der Impfstelle mit besonderen Erscheinungen nicht beantworten,

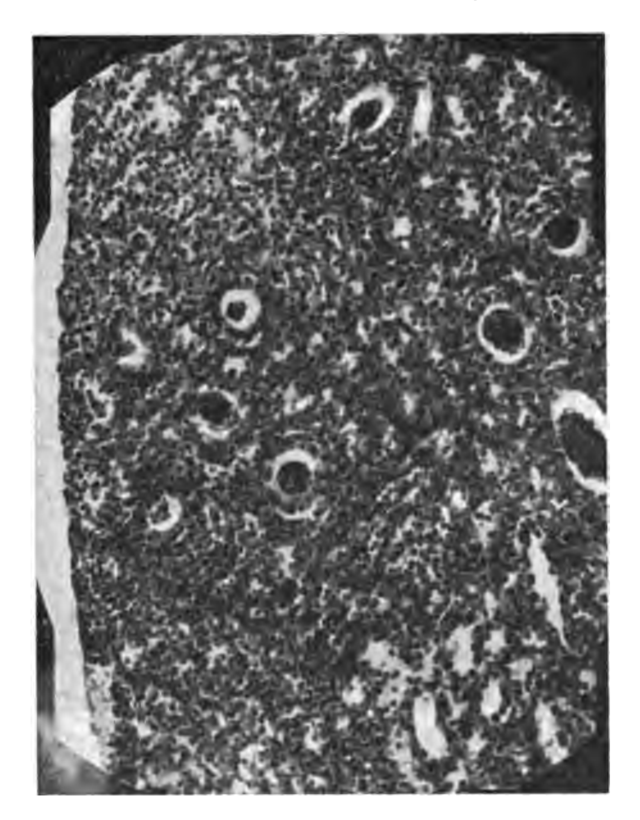


Fig. 3. Interstitielle Bindegewebswucherungen und lymphatische Granulationsmassen. Rattenniere; Pars medullaris. Vergr. 1:800.

werden solche bei weißen Mäusen wahrgenommen. Den Verlauf der Impfung bei diesen Tieren mögen einige Beispiele erläutern. In der ersten Versuchsreihe wurde 3 weißen Mäusen je ein Kohlkrebsstück subkutan am Rücken implantiert; 3 andere weiße Mäuse erhielten subkutan je ein Stück gesunder Kohlwurzel. Die letzteren Tiere blieben dauernd gesund; ihre Implantationswunde heilte in wenigen Tagen, während das implantierte Kohlstück allmählich resorbiert wurde. Die mit Kohlkrebs subkutan geimpften Mäuse zeigten dagegen nach 3 bis 5 Tagen die Haut über dem implantierten Kohlkrebsstück tief blaurot gefärbt. Einige Tage darauf bot die Implantationsstelle bei jeder Maus ein Ulcus mit steilen, derb infiltrierten Rändern dar. Die Ulcera zeigten

keinen progredienten Charakter und heilten nach 20—28 Tagen unter Bildung einer flachen Narbe. Den ulcerierenden Prozeß begleitete starker Haarausfall, der zeitweilig eine solche Ausdehnung gewann, daß bei einzelnen Mäusen ein Drittel des Rumpfes und ein Teil der Schenkel von Haaren völlig entblößt war. 30 Tage nach der subkutanen Impfung erhielten die Mäuse, da sie inzwischen normales Aussehen erlangt hatten, täglich Kohlkrebspartikel zum Futter. 15—21 Tage später zeigten die Tiere ein Erythem des Schwanzes am distalen Drittel desselben, worauf das Schwanzende in wenigen Tagen total gangränös wurde. Die Tiere magerten ab bis zum Skelett und starben nach 8 resp. 13 Tagen. In ihrem Darminhalt wurden Kohlkrebspartikel nachgewiesen; im übrigen bot ihre Sektion keinen bemerkenswerten Befund. — In einigen Fällen exstirpierte ich das Ulcus, welches an der Impf-

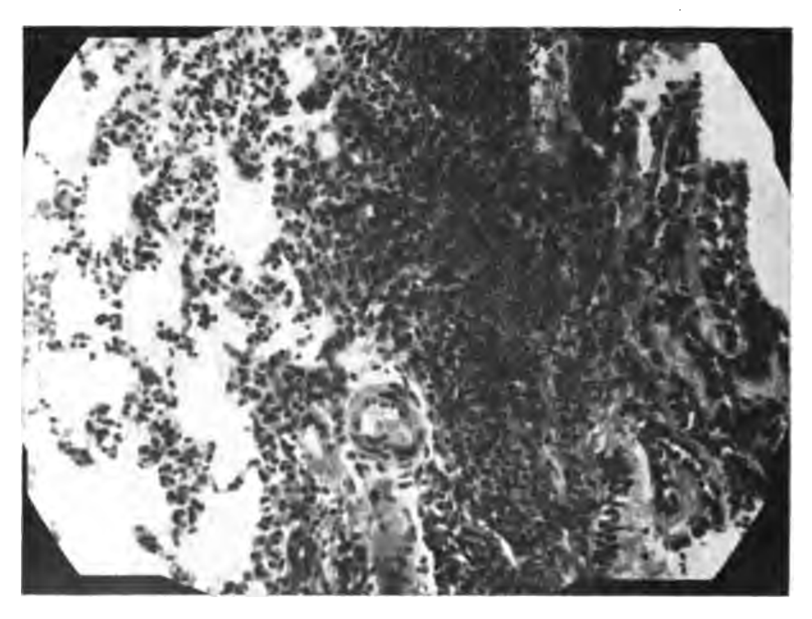


Fig. 4. Lymphatisches Granulationsgewebe um einen Hauptbronchus (Ratte). Vergr. 1:800.

stelle auftrat, um es der mikroskopischen Untersuchung zu unterziehen. In den nicht fixierten und nicht gefärbten Präparaten wurden in den Resten des implantierten Kohlkrebsstückes sowie in den Wandungen des Ulcus Kohlkrebsparasiten nachgewiesen; dagegen waren dieselben nach erfolgter Fixierung und Färbung in den Schnittserien nicht mehr wahrnehmbar. Wie der mikroskopische Befund lehrt, wird der ulcerierende Prozeß an der Implantationsstelle begleitet von einer erheblichen Proliferation der Epidermisepithelien in der Umgebung des Ulcus und einer Hypertrophie und Hyperplasie der angrenzenden Bindegewebszüge der Cutis.

In einer anderen Versuchsreihe wurden die Mäuse mit Aufschwemmungen von Kohlkrebsparasiten subkutan am Rücken geimpft (pro Tier 1 ccm). Von 6 weißen Mäusen, die in dieser Weise behandelt waren, starben 4 nach 5 resp. 7 Tagen. Sie zeigten bei der Sektion ausgedehnte

Blutungen im Dünn- und Dickdarm. Von den überlebenden Mäusen bot eine 11 Tage nach der Impfung zwei knotige Auftreibungen des Schwanzes dar; dieselben erhoben sich in der Form breitbasig aufsitzender, halblinsengroßer Geschwülste über der halben Zirkumferenz des Schwanzes und zeigten in der Folge keine Tendenz, größer oder kleiner zu werden. Dem betreffenden Tiere wurde 30 Tage nach der ersten Impfung ein Kohlkrebsstück subkutan am Rücken implantiert. Die Implantationsstelle zeigte einige Tage darauf das typische Ulcus; gleichzeitig trat im Bereiche der vorher erwähnten knotigen Auftreibungen des Schwanzes eine starke Schwellung desselben auf. Der Schwanz wurde nun amputiert und in Schnittserien zerlegt. Es fanden sich herdweise Anhäufungen von Lymphocyten sowie Gefäßthrombosen; auch glaubte ich an einzelnen Präparaten Wucherungen der Gefäßendothelien

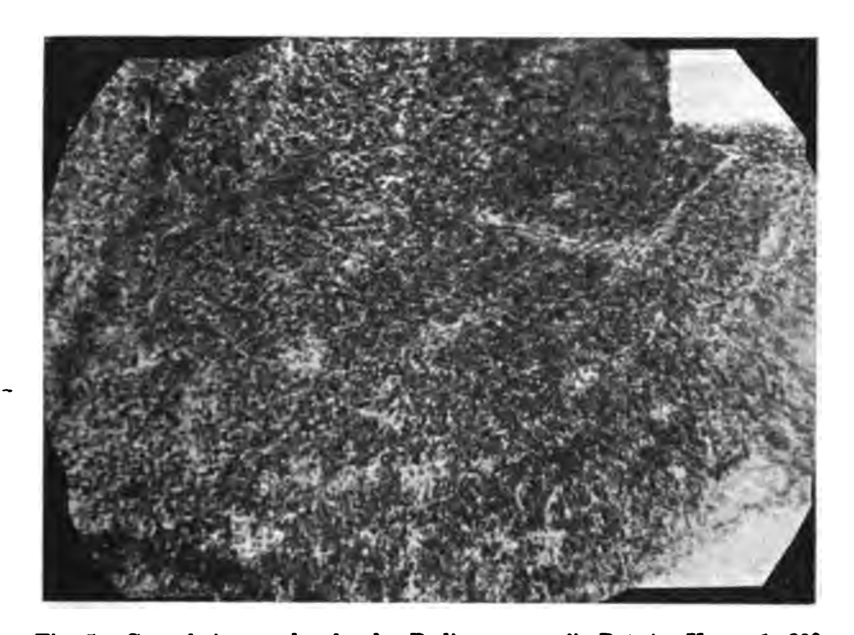


Fig. 5. Granulationsgeschwulst der Radix mesenterii (Ratte). Vergr. 1:800.

wahrzunehmen, durch welche einzelne Gefäße fast obliteriert erschienen. Indessen sei bemerkt, daß in Ermangelung einer ausreichenden Kenntnis der Mäuseanatomie die Deutung dieses letzteren Befundes unsicher blieb. Solide Gewebsproliferationen, durch welche die klinische Beobachtung genügend erklärt werden konnte, wurden an keiner Stelle der Schnittserien nachgewiesen.

Es können also nach meinen Experimenten, von denen ich nur einen Teil referiert habe, bei den üblichen Versuchstieren durch Impfungen mit Kohlkrebs hervorgerufen werden:

1) Akute tödliche Intoxikationen;
2) Granulationsgeschwülste;
3) interstitielle lymphatische und bindegewebige Wucherungen in den Nieren und Lungen, die das Bild der chronischen interstitiellen Nephritis und fibrösen Peribronchitis hervorrufen;

4) kachektische Erscheinungen, die sich in der Form extremster Abmagerung darstellen und zum Tode führen;

5) ulcerierende und gangräneszierende Prozesse;

6) Darmblutungen ohne erkennbare anatomische Grundlage.

Die völlig negativen Resultate, von welchen Prowazek und W. Löwenthal berichteten, möchte ich darauf beziehen, daß diese Autoren teils ungeeignete Versuchstiere, teils ungeeignetes Material für die Impfungen verwendet haben. Wenn man solide Kohlkrebsstücke verimpft, so kann die Fremdkörperwirkung derart überwiegen, daß durch die reaktive Bindegewebsproliferation die infizierende Wirkung der Parasiten aus dem Versuche eliminiert wird; ähnlich wie die Tuberkelbacillen für den Organismus ihres Wirtes unschädlich werden können, wenn der Tuberkel von derben Bindegewebsmassen eingehüllt ist. Es dürfte sich

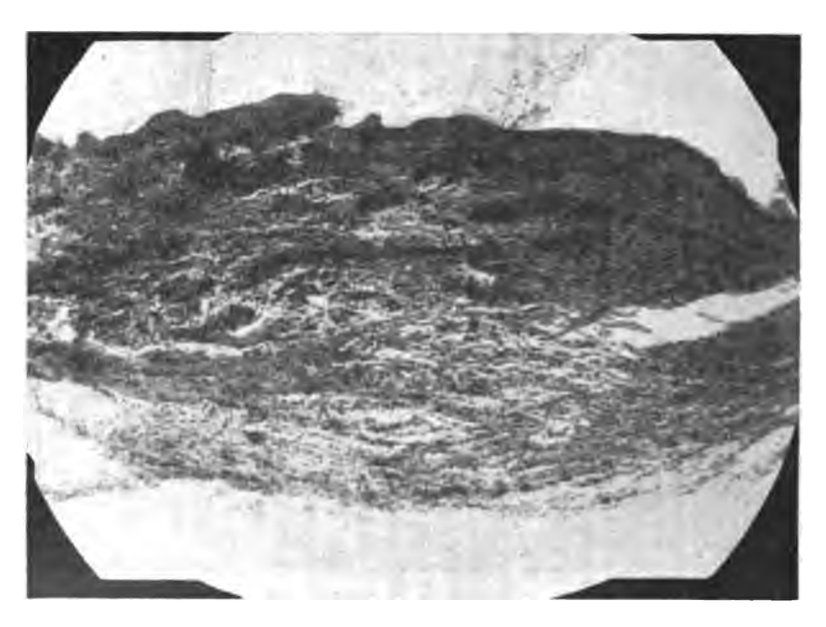


Fig. 6. Ulcus der Impfstelle (Maus). Vergr. 1:800.

daher bei Impfversuchen mit Kohlkrebs empfehlen, die Kohlkrebsstücke unter aseptischen Kautelen den zentralen Teilen der Geschwulst zu entnehmen, in sterilen Gläsern unter Watteverschluß zu bringen oder in feuchtem alkalischen Agar zu kultivieren, bis die Kohlkrebsstücke ihre harte Konsistenz verloren haben.

Ich möchte nun die Präparate nach den Photogrammen schildern.

Das Präparat Fig. 1 entstammt einer Maus, die subkutan am Rücken mit einem Kohlkrebsstück geimpft worden war. Nach 5 Tagen trat an der Impfstelle ein Ulcus mit steilen, derb infiltrierten Rändern auf, und 30 Tage später wurde das distale Drittel des Schwanzes gangränös. Der an die Gangrän angrenzende, anscheinend gesunde Teil des Schwanzes wurde in Querschnittserien zerlegt und nach van Gieson gefärbt. Das Präparat zeigt Herde von Lymphocyten und Gefäße, die teils thrombosiert, teils durch gewucherte Endothelien obliteriert erscheinen.

Die Präparate Fig. 2 und Fig. 3 sind gewonnen von der Niere einer Ratte, die mit einer Aufschwemmung von Kohlkrebsparasiten subkutan am Rücken geimpft worden war. Das stark abgemagerte Tier wurde 4 Monate nach der Impfung getötet. Bei der mikroskopischen Untersuchung boten die Nieren den Befund einer chronischen interstitiellen Nephritis. In der Pars medullaris wie in der Pars corticalis bemerkt man breite Granulationsmassen lymphatischen Charakters, die sich stellenweise zu derben Bindegewebszügen organisiert haben; am erheblichsten ist die Pars corticalis betroffen. In einigen Tubulis wurden Herde gelapptkerniger Leukocyten nachgewiesen; es ist jedoch hervorzuheben, daß weder an der Impfstelle noch in den Nieren oder in einem anderen Organe eiterige Prozesse bestanden.

Das Präparat Fig. 4 wurde gewonnen von der Lunge derselben Ratte, welcher die Nierenpräparate Fig. 2 und Fig. 3 entstammen. Dasselbe



Fig. 7. Normale Haut (Maus). Vergr. 1:800.

zeigt in der Umgebung der großen Bronchen ausgedehnte lymphatische Wucherungen, die zum Teil die Muscularis der Bronchialwand durchsetzen. Aus diesen Granulationsmassen gehen derbe Bindegewebsstränge hervor. Das anatomische Bild erinnert an die Fälle fibröser Peribronchitis des Menschen, die den syphilitischen Erkrankungen der Lunge zugerechnet werden, wenn man einen anderen Erklärungsgrund nicht findet.

Das Präparat Fig. 5 entstammt einer anderen Ratte, die ebenfalls mit einer Aufschwemmung von Kohlkrebsparasiten subkutan am Rücken geimpft worden war. Bei der Sektion des 4 Monate nach der Impfung getöteten Tieres fand ich im Mesenterium nahe der Radix mesenterii den oben geschilderten Tumor. Es handelte sich, wie das Präparat lehrt, um eine lymphatische Granulationsgeschwulst.

Das Präparat Fig. 6 entstammt einer Maus, die 7 Tage nach der Impfung an der Impfstelle das typische Ulcus zeigte. In den nicht

fixierten und nicht gefärbten Präparaten wurden in den Resten des implantierten Kohlkrebsstückes sowie in den Wandungen des Ulcus Kohlkrebsparasiten nachgewiesen; dagegen waren dieselben nach erfolgter Fixierung und Färbung in den Schnittserien nicht mehr wahrnehmbar. Das Präparat zeigt epitheliale Wucherungen des Rete Malpighii in der Umgebung des Ulcus sowie Hypertrophie und Hyperplasie der angrenzenden Bindegewebszüge der Cutis. An der Peripherie des Gesichtsfeldes erkennt man Reste des implantierten Kohlkrebsstückes.

Das Präparat Fig. 7 entstammt einem gesunden Hautteile derselben Maus. Man bemerkt, daß die Epidermis über den zarten Bindegewebszügen der Cutis in Gestalt eines gleichmäßigen Saumes verläuft, der an einzelnen Stellen nur durch die Haarfollikel unterbrochen ist.

Untersuchungen über Spirochaeta pallida und einige andere Spirochätenarten, insbesondere in Schnitten.

[Aus dem königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin. (Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky. Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Frosch.)]

Von Marinestabsarzt Dr. **P. Mühlens.**

Mit 2 Tafeln Mikrophotogrammen von Prof. Dr. Zettnow.

(Schluß.)

D. Spirochätenbefunde bei Organausstrich- und Schnittuntersuchungen.

Infolge des liebenswürdigen Entgegenkommens der eingangs genannten Herren war es mir möglich, Organe von 32 Föten zu untersuchen. Wenn irgend angängig, also stets bei frischem Material, machte ich nebeneinander Ausstrich- und Schnittuntersuchungen. Die Resultate derselben sind in der folgenden Uebersicht zusammengestellt. Als positiv syphilitisch sind die Föten bezeichnet, bei denen (abgesehen von der Spirochätenuntersuchung) durch pathologisch-anatomischen Befund und Anamnese die Diagnose Lues hereditaria gestellt worden war bezw. werden werden konnte. In den meisten Fällen wußte ich vor der Untersuchung der Giemsa-Ausstrichpräparate die Diagnose nicht.

Nach der nachstehenden Tabelle wurden also Organe von 32 Individuen untersucht. Von diesen enthielten die *Spirochaete pallida* 16, und zwar die sämtlichen Fälle, in denen die Diagnose Syphilis hereditaria feststand nach dem pathologisch-anatomischen Befund und der Anamnese. In allen 16 positiven Fällen wurden **sowohl im Organausstrich (Giemsa-Färbung) als auch im Schnitt (Levaditi-Färbung)** die Spirochäten (in mindestens je einem Organ) nachgewiesen, bei einzelnen nicht in allen untersuchten Organen. Eine *Spirochaete refringens* fand ich in Organausstrichen ähnlich wie andere Untersucher (Beitzke u. A.) nie. Von den 49 bei der Levaditi-Färbung positiven Organen waren 10 im Ausstrich nicht untersucht, 4 im Ausstrich negativ: Es handelte sich je einmal um einen Milz-, Herz-, einen Nebennieren- und einen Lungenausstrich in Fällen (4, 21, 24 u. 27), bei denen selbst in Schnitten

Zeichenerklärung:

\+ bedeutet: Wenige *Pallidae* im Präparat;
++ bedeutet: In jedem 2.—3. Gesichtsfeld durchschnittlich mindestens eine;
+++ bedeutet: Sehr zahlreiche Spirochäten im Präparat;
— bedeutet: Keine Spirochäten gefunden;
. bedeutet: Keine Untersuchung, weil kein Ausstrichpräparat vorhanden.

Ausstrich- und Schnittuntersuchungen von Föten bezw. Neugeborenen.

Lfde No.	Alter	Organe	Hat geatmet?	Ob mazeriert?	Ob syphilitisch?	Spirochätenbefund		Andere Mikroorganismen	
						Ausstrich	Schnitt	Ausstrich	Schnitt
1	6—7 Mon.	Leber	nein	nein	ja	+++	+++	—	—
2	.	Leber	nein	nein	ja	.	++	.	—
		Herz				.	+++	.	—
		Milz				.	++	.	—
3	8 Mon.	Leber	nein	nein, hat 1 Tag gelegen	nein	—	—	+	+
		Milz				—	—	+	+
								vielleicht sekundär	
4	.	Leber	nein	ja, etwas	ja	+	++	—	—
		Milz				—	+	—	—
		Lunge				—	—	—	—
5	6 Mon.	Leber	nein	ja, etwas	ja	+	+++	—	—
		Milz				+	+	—	—
6	.	Leber	.	ja	ja	++	+++	—	—
		Milz				+++	+++	—	—
7	3 Mon.	Herz	nein	ja, etwas	nein	—	—	—	—
		Lunge				—	—	—	—
8	.	Leber	.	mäßig	ja	+	+++	—	—
		Milz				++	+++	—	—
9	3 Mon.	Herz	nein	stark mazeriert	nein	—	—	—	—
		Lunge				—	—	—	—
		Leber				—	—	—	—
		Niere				—	—	—	—
10	9 Mon.	Lunge	nein	nein	nein	—	—	+	+
		Leber				—	—	+	+
		Milz				—	—	+	+
		Niere				—	—	++	+
		Hoden				—	—	+	+
11	10 Mon.	Leber	ja	ja, stark	nein	—	—	+	+
		Gehirn				—	—	+	—
12	.	Leber	nein	nein	nein	.	—	.	—
		Milz				.	—	.	—
		Nebenniere				.	—	.	—
		Niere				.	—	.	—
		Lunge				.	—	.	—
13	.	Leber	nein	etwas	nein	.	—	.	—
		Milz				.	—	.	—
		Nebenniere				.	—	.	—
		Niere				.	—	.	—
		Lunge				.	—	.	—
14	6 Mon.	Leber	nein	ja, stark	ja	+	++	+	+
		Nebenniere				.	++	—	—
		Milz				++	+++	—	—

Lfde No.	Alter	Organe	Hat geatmet?	Ob mazeriert?	Ob syphilitisch?	Spirochätenbefund		Andere Mikroorganismen	
						Ausstrich	Schnitt	Ausstrich	Schnitt
15	8 Mon.	Gehirn	nein	nein	nein	—	—	—	—
		Lunge				—	—	—	—
		Herz				—	—	—	—
		Leber				—	—	—	—
		Milz				—	—	—	—
		Niere				—	—	—	—
		Nebenniere				—	—	—	—
		Pankreas				—	—	—	—
		Hoden				—	—	—	—
		Placenta				—	—	—	—
16	4 Mon.	Herz	nein	ja	nein	—	—	—	—
		Lunge				—	—	—	—
		Leber				—	—	—	—
		Milz				—	—	—	—
		Niere				—	—	—	—
		Nebenniere				—	—	—	—
17	.	Leber	.	ja, etwas	nein	—	—	—	—
18	.	Leber	.	ja, etwas	ja	+	++	+	+
19	5—6 Mon.	Lunge	nein	8 Tage lang aufbewahrt, stark verwest	nein	—	—	+++	+++
		Leber				—	—	+++	+++
		Milz				—	—	+++	++
		Niere				—	—	+++	++
		Nebenniere				—	—	+++	++
20	10 Mon.	Lunge	ja	nein	nein	—	—	—	—
		Leber				—	—	—	—
		Milz				—	—	—	—
		Niere				—	—	—	—
		Placenta				—	—	—	—
21	9 Mon.	Leber	ja	nein, äußerlich etwas verwest; Organe gut erhalten	ja	+	++	—	—
		Milz				+	+	—	—
		Hoden				—	—	—	—
		Pankreas				—	—	—	—
		Nebenniere				—	+	—	—
		Niere				—	—	—	—
		Herz				—	—	—	—
		Lunge, Partie v. Pneumonia alba				+	+++	+	+
		Lunge, normale Partie				—	—	—	—
22	7 Mon.	Leber	nein	ja, etwas	ja	++	+++	—	—
		Milz				+	++	—	—
		Niere				+	+	—	—
		Nebenniere				+	++	—	—
23	9 Mon. Totgeburt	Leber	nein	ja, etwas stark	ja	++	++	—	—
		Milz				++	+	—	—
		Niere				+	+	—	—
		Nebenniere				+	+	—	—
		Lunge				—	—	—	—
		Gehirn				—	—	—	—
24	9 Mon. Totgeburt	Leber	nein	ja, etwas faul	ja	+	++	—	—
		Milz				+	++	—	—
		Nebenniere				+	+	—	—
		Lunge				—	+	—	—
		Herz				—	—	—	—
		Nabelschnur				—	—	+	+

Lfde No.	Alter	Organe	Hat geatmet?	Ob mazeriert?	Ob syphilitisch?	Spirochätenbefund		Andere Mikroorganismen	
						Ausstrich	Schnitt	Ausstrich	Schnitt
25	7—8 Mon.	Thymus	nein	ja	ja	.	—	.	—
		Pankreas				.	+	.	—
		Leber				.	++	.	—
		Niere				.	+	.	—
		Nebenniere				.	++	.	—
		Lunge				.	+	.	—
26	5 Mon.	Lunge	nein	ja, mäßig	ja	+	+	—	—
		Leber				++	+++	—	—
		Milz				++	++	—	—
27	6 Mon.	Milz	nein	ja	ja	+	+	—	—
		Niere				+	+	—	—
		Leber				+	+	—	—
		Herz				—	+(sehr spärl.)	—	—
		Lunge				+	+	—	—
		Placenta				—	—	+	+
		Nabelschnur				—	—	+	+
28	5 Mon.	Milz	nein	nein	nein	—	—	—	—
		Niere				—	—	—	—
		Leber				—	—	—	—
		Lunge				—	—	—	—
29	4—5 Mon.	Milz	nein	ja, etwas	nein	—	—	—	—
		Leber				—	—	—	—
		Niere				—	—	—	—
		Lunge				—	—	—	—
30	7 Mon.	Niere	nein	ja, etwas	ja	+	+	—	—
		Milz				++	+	++	++
		Leber				+	+	—	—
		Lunge				+	+++	+	+
		Gehirn				—	—	—	—
31	9 Mon.	Leber	ja	nein	nein	—	—	—	—
		Milz				—	—	—	—
32	7—8 Mon.	Milz	nein	faul, hat 3 Tage gelegen	nein	—	—	+	+
		Lunge				—	—	+	+
		Niere				—	—	+	+
		Leber				—	—	+	++

nur wenig Spirochäten (+) nachzuweisen waren. Mitunter waren die Ausstrichpräparate sehr schlecht dadurch, daß der Untergrund stark blaurot mitgefärbt war und viel flockigen krümeligen Niederschlag zeigte. Es ist zu bedenken, daß bei aller Sorgfalt bei Herstellung der Präparate Niederschläge nicht zu vermeiden sind, und deshalb muß mit dieser Fehlerquelle gerechnet werden. In derartigen Präparaten, die man namentlich beim Ausstreichen von Organstücken von stark mazerierten Föten erhält, sind die Spirochäten manchmal nur sehr schwer oder gar nicht zu erkennen. Beitzke (2) erwähnt, daß er bei der Untersuchung von Organausstrichen von 5 stark mazerierten syphilitischen Föten stets negative Resultate erhielt. Er ist der Ansicht, daß, je stärker die Mazeration sei, desto weniger Spirochäten nachzuweisen seien, da „desto mehr die Färbbarkeit leide“. So erklären sich auch vielleicht zum Teil manche meiner Befunde von wenig Spirochäten (+) in Ausstrichen von Organen, in deren Schnitten sehr viele Spirochäten (+++) nachzuweisen waren. Viele (wohl die meisten) Spirochäten sind auch in Ausstrichen (namentlich dicken) zweifellos von

Zellen überdeckt. Ferner ist zu bedenken, daß beim Schnitt auf gleichem Raum bedeutend mehr Material übersehen wird als im Ausstrich, in ersterem gleichmäßig dünn verteilt und gleichmäßig gefärbt, im Gegensatz zu den Ausstrichen. Außerdem kommt noch ein weiterer Punkt in Betracht. In vielen Organschnitten fand ich gleichwie auch schon andere Autoren (so in der Leber, Fall 5, und in der Lunge, Fall 21 u. a. m.) die Spirochäten haufenweise nur an gewissen Stellen, während andere ganz frei davon waren, also ähnlich so, wie man es auch bei Bakterieninfektionen (Streptokokken, Rotz, Typhus) beobachten kann (vergl. mikrophotograph. Taf. I, Fig. 1 u. 2, auf denen die Haufen schon bei schwacher Vergrößerung erkannt werden). Ein dementsprechendes Verhalten konnte ich auch häufig in den nach der beschriebenen Tupfmethode hergestellten Giemsa-Präparaten feststellen. In manchen Tupfern fanden sich viele Spirochäten, oft mehrere ineinander verschlungen; 6—8 Spirochäten in einem Gesichtsfeld, mitunter noch mehr waren keine Seltenheit; so zählte ich einmal 35 in einem Gesichtsfeld. In anderen Tupfern, oft den danebenliegenden, fand ich dagegen nur einzelne oder auch gar keine. Ja, ich habe einmal in einem Objektträgerpräparat mit 12 Tupfern keine einzige Spirochäte feststellen können, während ich in einem zweiten Präparat vom selben Organ gleich im ersten Tupfer Spirochäten hatte, und zwar nicht wenige.

Mit Vorstehendem dürfte hinreichend erklärt sein, warum man die Spirochäten in Ausstrichen nicht in gleicher Menge erwarten darf, wie in Levaditi-Schnitten. Bei meinen Untersuchungen stimmte der Spirochätenbefund in den Giemsa-Ausstrichpräparaten bezüglich der Menge mit den Spirochäten in Levaditi-Schnitten meist insofern überein, als bei größeren Spirochätenmengen in den Schnitten auch die Zahl in nicht zu dicken Ausstrichen entsprechend größer war.

An dieser Stelle möchte ich noch eine Bemerkung im Zusammenhang mit den in unserem Institute auf der Abteilung des Herrn Prof. Wassermann mit syphilitischen Organextrakten angestellten biologischen Reaktionen (Antigennachweis durch Komplementablenkung) einfügen, insofern dieselben durch meine Untersuchungen sowie die bereits veröffentlichten von Bab (1) ergänzt werden [vergl. auch Wassermann und Plaut (35)]. Von den untersuchenden Herren Dr. Plaut, Prof. Schütze und später Dr. Citron erhielt ich verabredetermaßen und absichtlich die Organstücke der betreffenden Föten meist zunächst ohne jede Angabe. Ich konnte also nicht wissen, ob ich syphilitisches Material zur Untersuchung vor mir hatte oder nicht. Von demselben machte ich sogleich Ausstrich- und später Schnittpräparate. Am folgenden Tage stellte ich sodann die Diagnose durch Untersuchung der Ausstrichpräparate fest, also ob *Spirochaete pallida* positiv oder negativ, und verglich dasselbe dann erst mit dem Ergebnis der spezifischen Reaktionsprüfung. Hierbei erfuhr ich auch meist das Ergebnis der Sektion und Anamnese. Nach 11 Tagen stand sodann auch das Resultat der Schnittuntersuchung fest. An derartigen Paralleluntersuchungen habe ich mich im ganzen 18mal beteiligt, und zwar in den Fällen 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 17, 18, 22, 26, 27, 28, 29, 30, 31 und 32. In sämtlichen Fällen bis auf No. 18 stimmte das Resultat der biologischen Reaktion schon mit dem Befund meiner Giemsa-Ausstrichpräparate sofort überein; im Fall 18 (anfangs Präparat

negativ, Reaktion positiv) konnte ich aber bei nochmaliger Untersuchung abends auch nachträglich Spirochäten finden. Das heißt also nunmehr: In 9 (unabhängig von meinen Untersuchungen) auf biologische Reaktion (Komplementablenkung) untersuchten Organen von syphilitischen Föten deckte sich das positive Resultat der Reaktion mit dem von mir gleichzeitig unbeeinflußt erbrachten positiven Nachweis der *Spirochaete pallida* in den betreffenden Organ**ausstrichen**, ebenso auch das negative Resultat bei 9 nicht syphilitischen Föten (Kontrollen). Bei der späteren Schnittuntersuchung wurde endlich dieser Befund in sämtlichen Fällen bestätigt. Zudem stimmten auch noch meine Schnittresultate mit denen von Bab (1) überein in den Fällen, in welchen dieser auch dieselben Organe untersucht hatte (6mal), sowie auch mit der pathologisch-anatomischen Diagnose.

Diese Tatsachen sprechen bei dem absolut einwandsfreien Gang der gegenseitigen Kontrolle für sich selbst. Sie beweisen nicht nur die Möglichkeit des Nachweises der *Spirochaete pallida* im Ausstrich und im Schnitt, sondern auch die Uebereinstimmung des Spirochätennachweises im Ausstrich und Schnitt mit dem Ausfall der spezifischen Reaktion und dem pathologisch-anatomischen Befund. Dieser Hinweis auf die Spezifität der *Spirochaete pallida* wird noch bestärkt durch die häufig beobachtete Tatsache, daß ein starker Antigengehalt des Extraktes einem großen Gehalt der Organe an Spirochäten entsprach [Bab (1)].

Meine positiven Befunde im Ausstrich und Schnitt von Organen nebeneinander stellen nun keineswegs etwas ganz Neues dar, höchstens insofern, als es mir bei der von mir angewandten sorgfältigsten Technik in sämtlichen untersuchten Fällen, und zwar bei fast allen nach Levaditi positiven Organen, gelang, die *Spirochaete pallida* auch im Ausstrich nachzuweisen. Diese **Regelmäßigkeit** wurde bisher bei den meisten Untersuchungen vermißt, wenn auch zahlreiche Befunde vom Nachweis der Spirochäten in Ausstrichen und Schnitten derselben Organe (zum Teil „in adäquaten Mengen"), zum Teil auch bei Lebenduntersuchung, längst in der Literatur niedergelegt sind. Erwähnt seien hier nur die älteren Befunde von Buschke und Fischer (5), Gierke (11), Wallich und Levaditi (34) sowie Beitzke (2) und hinzugefügt, daß schon vor dem Nachweis der Spirochäten in Schnitten ihr Vorkommen in Ausstrichen von kongenital syphilitischen Produkten und Organen sowie durch Lebendbeobachtung erbracht war. Um so unverständlicher ist es, wenn Saling (25 u. 26) erklärt, daß es bei der Untersuchung von Ausstrichen innerer Organe „gar nicht oder nur unter ganz bestimmten Umständen gelungen sei, einige wenige Exemplare zu entdecken" oder daß „die Giemsa-Spirochäte in Organausstrichen nur in der spärlichsten und unsichersten Weise gesehen worden sei" oder endlich: „In den ganz vereinzelten Fällen aber, wo die Giemsa-Spirochäte gleichzeitig im Ausstrich beobachtet worden sein soll (von mir gesperrt), ist sie keineswegs in adäquaten Mengen beschrieben worden, sondern kann nur von wenigen Auserlesenen, sogenannten Geübten, allerdings auch dann nur nach stundenlangem Suchen und in äußerst spärlichen Exemplaren aufgefunden werden." In ähnlichem Sinne äußert sich Schulze (31) zu diesem, wie er selbst sagt, „ungemein wichtigen Punkte", auf den er mit den Hauptwert in

seiner Beweisführung gegen die Identität der *Pallida* mit der „Silberspirochäte" in syphilitischen Organen legt. Nun frage ich: Sollten den beiden Autoren wirklich in den genannten und in anderen Arbeiten zufällig die Stellen entgangen sein, an denen das Vorkommen der „Giemsa-Spirochäte" in Ausstrichen von kongenital syphilitischen Organen bezeichnet wird als „mäßig zahlreich", „zahlreich", „sehr zahlreich", „in adäquaten Mengen", „in zahllosen Mengen" u. a. m.? Gerade in der Arbeit von Beitzke (2), die in Salings Augen so wenig Gnade findet, ist unter anderem auch die Rede davon, daß fast in jedem Gesichtsfeld Spirochäten waren, daß sie in kleinen Gruppen, öfters auch zu zweien lagen. Derartige Befunde, die den Kritiken objektiv den Boden entziehen, werden nicht erwähnt, dafür wird aber angeführt, „daß Beitzke z. B. nach langem Suchen in einem Leberabstrich ein (!) zweifelloses (?) Exemplar entdeckte". Also eine meiner Ansicht nach durchaus einseitige Betrachtung! Ich bin überzeugt, daß, wenn Saling, Schulze und Friedenthal selbst einmal eine Anzahl von syphilitischen Organausstrichen nach der von mir beschriebenen Technik aufs sorgfältigste untersuchen würden, sie sich von der Haltlosigkeit ihrer Einwände überzeugen könnten.

Denn meiner Ansicht nach ist es bei einer sorgfältigen Untersuchungstechnik möglich, den Nachweis der *Pallida* auch in Giemsa-Ausstrichpräparaten von kongenital syphilitischen Organen konstant zu erbringen. In gut gelungenen Präparaten schwankt die Menge der Spirochäten im Giemsa-Ausstrich im allgemeinen je nach der Menge in den entsprechenden Organschnitten.

Die Färbung der Spirochäten in Organausstrichen mit der Silbermethode gelang mir bei einigen Versuchen nicht, da durch die Mitfärbung des Organsaftes und durch viele Niederschläge die Details unkenntlich wurden (ähnlich wie in zu dicken Ausstrichen bei der Zettnowschen Geißelfärbungsmethode).

Ueber die **Morphologie** der von mir in den Organausstrichen gefundenen Spirochäten könnte ich nur ähnliches bezw. dasselbe sagen wie über die in den Präparaten von harten Schankern und Drüsenausstrichen. Vergleichende Untersuchungen der einzelnen Präparate nebeneinander ließen an der Identität der Spirochäte in den Organsaftausstrichen einerseits sowie in den Schanker- und Drüsenausstrichpräparaten andererseits keinen Zweifel. Dies geht auch aus den beigefügten, in liebenswürdigster Weise von Herrn Prof. Zettnow hergestellten **Mikrophotogrammen** hervor.

Ich muß hier erwähnen, daß es nicht leicht ist, in Organausstrichen und auch in Schnitten geeignete Stellen für die Mikrophotographie zu finden. In Organschnitten liegen selten viele Spirochäten in ihrer ganzen Länge in derselben Ebene wie in Mikrophotogramm Taf. II, Fig. 6. Was man mit Hilfe kleiner Drehungen der Mikrometerschraube erkennt, vermag das Photogramm nicht wiederzugeben. In den Organausstrichen läßt der durch die lange Färbung stark gefärbte oder niederschlagsreiche Untergrund allzu häufig die Herstellung eines scharfen photographischen Bildes nicht zu. Gern hätte ich ein mehrere Spirochäten in einem Gesichtsfeld enthaltendes Mikrophotogramm von einem Organausstrich gegeben. Aber die vielen von mir Herrn Prof. Zettnow zur Photographie gezeigten derartigen Stellen wurden abgelehnt, weil in ihnen stets nur eine Spirochäte scharf sich darstellen ließ oder die Spirochäten sich nicht genügend vom Untergrund abhoben. Die Originale zu den bei der Vergrößerung 1:1000 aufgenommenen Mikrophotogrammen der Taf. I zeigen die im Gewebe liegenden Spirochäten wesentlich deutlicher als die Wiedergabe. Fig. 5 ist bei der Vergrößerung 1:1500 aufgenommen. Diese Spirochäte entstammt einem Abstrich derselben Milz, von der auch die Photogramme Taf. I, Fig. 1, 2, 3 und Taf. II, Fig. 1

gemacht sind. Bemerkt sei, daß die Mikrophotogramme der Taf. I leider gegen unsere Absicht nicht in der ursprünglichen Vergrößerung, sondern in der zur Verschärfung der photomechanischen Reproduktion üblichen Verkleinerung auf $^{9}/_{10}$ wiedergegeben sind (vergl. Tafelerklärung). Hierdurch wird der Vergleich, auch mit Abbildungen anderer, gestört. Ein solcher ist eher möglich bei den Bildern der Taf. II, die in der Vergrößerung 1:1000 wiedergegeben sind. Zum Vergleich habe ich auch auf Taf. II noch Mikrophotogramme beigegeben von aus harten Schankern stammender *Spirochaete pallida* (Fig. 5), die in dem Ulcus in großen Mengen fast in Reinkultur gefunden wurde, ferner *Spirochaete dentium* (Fig. 8) aus Reinkultur[1]), Refringensspirochäte und *Pallida* im selben Präparate[2]) (Fig. 3 u. 4) aus einem Ulcus mixtum sowie endlich Balanitisspirochäten (Fig. 7), von denen in auffallender Weise eine große Epithelzelle viele enthält.

Die beigegebenen Mikrophotogramme gestatten einen Vergleich in Bezug auf Bau und Größe der *Spirochaete pallida* sowohl gegenüber anderen Arten als auch der *Pallidae* aus Organschnitten mit denen aus Organ- und Schankerausstrichen. Die Bilder zeigen deutlich die Unterschiede der *Pallida* gegenüber den anderen und die Identität der Spirochäten in Schnitten mit denen aus Organ- und Schankerausstrichen. Zu bedenken ist bei dem Vergleich selbstverständlich, daß die silberimprägnierten Spirochäten in Organen stärker gefärbt erscheinen; auch sind sie infolge der Alkoholbehandlung häufig durch Schrumpfung kleiner (Taf. I, Fig. 3 u. 4). Im übrigen möchte ich dringend davor warnen, auf Vergleiche von Spirochäten, deren Mikrophotogramme verschiedener Größe sind und aus verschiedenen Quellen stammen, in verschiedener Art reproduziert und vielleicht außerdem noch verschiedenartig gefärbt sind, untereinander sowohl als auch mit aus anderen Quellen stammenden gezeichneten Exemplaren, die eventuell wieder anders gefärbt sind, allzu viel Wert zu legen, wie es von vielen Seiten geschieht (Saling u. a.). Derartige Vergleiche, deren Unzuverlässigkeit jedem mit solchen Fragen vertrauten Beobachter bekannt ist, beweisen gar nichts. Am sichersten ist und bleibt selbstverständlich der Vergleich im Mikroskop. Und da konnte ich mich immer und immer wieder von der Identität überzeugen. Natürlich läßt sich nicht jede beliebige Spirochäte des Ausstrichpräparates mit jeder des Schnittes vergleichen. Die typische *Pallida*-Form ist aber entschieden in beiden vorherrschend. Außerdem aber, was mir nicht unwesentlich zu sein scheint, lassen sich auch in den Schnitten fast regelmäßig dieselben atypischen Formen wie in Ausstrichen nachweisen, von denen schon früher die Rede war, also die Formen mit zum Teil ausgezogenen Windungen, mit aufgerollten oder knopfartig verdickten Enden und manchmal auch die als Teilungsstadien angesehenen Formen. Das ist doch wohl auch eine Tatsache, die sehr für die Identität der beiden Gebilde spricht. Er wäre gar zu auffallend, wenn Nervenendfibrillen oder dergl. gerade oder nur in syphilitischen Organen Formen annehmen würden, die mit den in Primäraffekten und anderen syphilitischen Produkten gefundenen Spirochätenformen übereinstimmen. „Kunstprodukte von spirochätenähnlicher Gestalt“ (Saling) sind die **von mir** gesehenen „Spiralen“ in Organausstrichpräparaten ebensowenig wie die Spirochäten in Schankerausstrichen.

---

1) Inzwischen ist es gelungen, Photogramme von einem Nebennierenausstrich eines syphilitischen, 4 Tage post partum verstorbenen Kindes mit über 25 deutlichen *Sp. pallidae* in einem Gesichtsfeld herzustellen.

2) Man beachte in dem Zahnspirochätenphotogramm noch besonders die Teilungsformen, bei denen 2—3 Spirochäten durch eine feine Brücke zusammenhängen.

Ueber die **Lagerung der *Spirochaete pallida* in syphilitischen Organen** und die dabei fast allgemein zu beobachtende Uebereinstimmung der Verteilung mit den pathologisch-anatomischen Veränderungen ist in der Literatur viel und eingehend berichtet. Ich kann dem nichts wesentlich Neues hinzufügen. Nur möchte ich Saling und Schulze gegenüber noch ausdrücklich hervorheben, daß auch ich die „Silberspirochäten" wiederholt sicher frei im Lumen von Blutgefäßen zwischen (nicht auf) den roten Blutkörperchen, so besonders zahlreich unter anderem bei einer Pneumonia alba und hier auch im Inhalt der mit entzündlichem Exsudat gefüllten Alveolen sowie der größeren und kleineren Bronchien liegen sah. Die Annahme einer Verschleppung von Nervenendfibrillen oder dergl. dorthin durch das Mikrotommesser (Saling und Schulze) oder infolge vorherigen Zerfalls solcher Gebilde in der Gefäßwand bei der Mazeration scheint mir außerordentlich unwahrscheinlich, zumal ich am Rande, außerhalb der Schnitte, niemals eine freiliegende, etwa durch das Mikrotommesser dahin verschleppte „Silberspirale" habe finden können. Sie müßte außerdem auch doch wohl bei nicht luetischen Organen vorkommen. Trotz Mazeration konnte ich in diesen niemals „verschleppte Nervenfasern" oder dergl. in Blutgefäßen und Bronchien finden. Gerade der Pneumoniefall ist auch noch in einer anderen Hinsicht sehr lehrreich. Weiße Herde fanden sich: Ein großer im rechten Oberlappen und einzelne kleine im selben Unterlappen. Während nun in diesen Herden (im Oberlappen zahlreicher) die „Silberspirochäten" nachzuweisen waren, fanden sich hingegen keine in pathologisch-anatomisch nicht veränderten Teilen derselben Lunge (Fall 21). Das Organ war gut erhalten, **nicht mazeriert.** Erwähnt sei ferner noch, daß ich in Nieren die „Silberspiralen" mitunter in den Glomerulis in einem Falle ziemlich zahlreich sah; ähnlich auch in einem Recurrensschnitt die Recurrensspirochäten (siehe später); diese letzteren waren aber deutlich von denen in der Syphilisniere durch Größe und flachere Windungen zu unterscheiden.

Gegen die Ansicht von Schulze und Saling, daß Mazeration des luetisch erkrankten Gewebes, besonders bei Frühgeburten, die Umwandlung der Nervenendfibrillen etc. in Spiralformen (also den Nachweis der Silberspirochäten) begünstige, sprechen verschiedene in der Literatur niedergelegte Befunde, bei denen es sich um Kinder handelte, die gelebt hatten [Gierke (11 u. 12), Buschke und Fischer (6) u. a.], die also nicht mazeriert waren und dennoch viele Spirochäten enthielten. Ganz unzutreffend ist es, wenn Schulze sagt: „Die Gierkeschen Präparate stammen von mehr oder minder stark mazerierten Föten". In Wirklichkeit handelte es sich in sämtlichen Fällen um Kinder, die mehr oder weniger lange gelebt hatten, das jüngste 8 Stunden, also keine Zeichen von Mazeration zeigten. Auch unter meinen Fällen sind nicht (1, 2, 21) oder nur wenig mazerierte Föten, die trotzdem zahlreiche Spirochäten enthielten.

E. Kontrolluntersuchungen.

Gegenüber den Einwänden von Saling, Schulze u. a. **gegen die** „Silberspirochäte" in nach der Volpino-Bertarelli-Levaditi-(alten Ramón y Cajal-) Methode gefärbten Schnitten **überzeugte ich mich zunächst, daß diese Methode in der Weise, wie ich sie anwandte** (6 Tage Versilberung und 2 Tage Reduktion), **auch tatsächlich im stande ist, Spirochäten in Schnitten darzustellen. Zu dem**

Zwecke versilberte ich frische Organe von mit *Spirochaete gallinarum* infizierten Hühnern und von einer mit *Recurrens* infizierten Ratte, die im Blutausstrich viele Spirochäten hatten. In beiden Fällen gelang es mir (ähnlich wie Bertarelli und Levaditi), die Spirochäte im Lumen der Gefäße, zum Teil in Knäueln liegend, einwandsfrei darzustellen. Auch fand ich mitunter Spirochäten in Zellen oder im Zwischengewebe. Hier sahen sie kleiner aus als im Gefäßlumen; die Windungen waren alsdann regelmäßiger als im Lumen, so unter anderem in der Niere bei der Recurrensratte; in dieser fand ich Spirochäten auch in den Glomerulis ebenso wie einmal bei Syphilis (siehe vorher). Die beiden Arten Hühner- und Recurrensspirochäte waren voneinander nicht zu unterscheiden. Das ist ja auch in Ausstrichpräparaten kaum möglich. Dagegen sahen sie entschieden anders aus als die strittigen „Spiralen" in syphilitischen Organen: Sie waren fast durchweg größer, die Windungen waren weniger zahlreich, weiter und gröber sowie meist unregelmäßig, ähnlich wie in Ausstrichpräparaten; nur im Zwischengewebe und in Zellen erschienen sie häufig etwas kleiner und regelmäßiger gewunden, wie schon erwähnt. Auch Bertarelli und Levaditi konnten diese Spirochäten deutlich von der *Pallida* unterscheiden. Bertarelli erwähnte ferner, daß es ihm bei denselben Rückfallfieberorganen mit anderen Methoden (Pappenheim, Giemsa, Weigert) niemals gelungen sei, das Vorhandensein der Spirochäten mit Sicherheit festzustellen. Auch ich habe bei derartigen Färbeversuchen viele Mißerfolge erlebt. Nur wenn ich die in Giemsa-Lösung intensiv (bei 60° C oder 24 Std. lang) gefärbten Schnitte aus dem Wasser sofort auf nur kurze Zeit in mit etwas Eosin versetzten absoluten Alkohol und dann gleich in Xylol brachte, erhielt ich mitunter, auch nicht immer sicher, eine leidlich gute Spirochätenfärbung. Die Zahl derselben in den Gefäßen war alsdann anscheinend geringer als in den Levaditi-Schnitten, im Gewebe waren sie nicht zu erkennen wegen der gleichartigen bezw. ähnlichen Färbung des Gewebes. Erwähnt sei noch, daß ich in den nach Giemsa gefärbten Recurrensschnitten blaßblau gefärbte Spirochäten sah, die mehrere dunkelrote körnchenartige Einlagerungen (Chromatin?) zeigten.

Mit dieser und auch noch sehr vielen anderen Methoden habe ich wochenlang versucht, auch die *Pallida* in Schnitten zur Darstellung zu bringen; es ist mir aber bisher nicht gelungen. Ebensowenig konnte ich in dem gleich noch zu beschreibenden ulcerierten Oesophaguscarcinom mit anderen als der Silbermethode Spirochäten zur Darstellung bringen. Die *Pallida*-Gegner sehen in dieser Unmöglichkeit der Darstellung der *Pallida* im Gewebe mit unseren bekannten Methoden auch einen Grund, die „Silberspirochäte" nicht mit der Spirochäte in Schanker- etc. Ausstrichpräparaten zu identifizieren, sondern sie für Gewebsbestandteile oder dergl. zu halten. Die Erklärung für diese Färbungsschwierigkeiten liegt jedoch nicht allzu fern. Schon in Organausstrichpräparaten ist die Färbung der *Pallida*, wie bekannt, nicht leicht. Durch Alkoholbehandlung wird auch in Ausstrichpräparaten die *Pallida* meist schnell, ja häufig sofort entfärbt. Um so weniger ist es zu verwundern, wenn außer durch Versilberung die Färbung in Gewebsschnitten, die der Entwässerung wegen mit Alkohol behandelt werden müssen, bisher unmöglich erscheint. Die Herxheimersche Färbung mit Nilblau gelang mir auch nicht. Selbst wenn man die Alkoholbehandlung der Schnitte umgehen würde, dann dürfte es meiner Ansicht

nach doch wohl kaum möglich werden, die Spirochäte bei ihrer außerordentlichen Feinheit (Verkleinerung durch Fixierung) in dem in gleichem Farbenton gefärbten Gewebe zu erkennen (bei Giemsa-Färbung rot etc.). Haben wir doch gesehen, daß dies selbst bei den größeren und leichter färbbaren Hühner- und Recurrensspirochäten nicht der Fall ist. Meiner Ansicht nach kann nur eine Beize- oder starke Kontrastfärbung die *Pallida* eventuell zur Darstellung bringen. Zusatz bei der Korrektur: Inzwischen ist mir die Färbung von ***Pallida*-Spirochäten in Ausstrichen von feinen abgekratzten Gewebsstückchen von der syphilitischen Kaninchencornea nach Giemsa gelungen.** (Demonstriert Berl. med. Gesellschaft am 7. März 1907.)

Sehr lehrreich war die Untersuchung eines ulcerierten Oesophaguscarcinoms, in dem ich nach Versilberung Spirochäten in ähnlichen Mengen wie in luetischen Früchten darstellen konnte. Vorher hatte ich mich an nach Giemsa gefärbten Ausstrichpräparaten des Carcinoms von dem Vorhandensein von Spirochäten überzeugt. In den Ausstrichen waren mit Sicherheit zwei Typen gleich zu unterscheiden, und zwar die der im Zahnbelag vorkommenden *Spirochaete buccalis* sowie der kleineren *Spirochaete dentium* [Hoffmann und von Prowazek (16), Mühlens und Hartmann (20)]. Ferner konnte man bei genauerem Zusehen auch die wahrscheinlich zwischen diesen beiden Typen einzuschaltende „mittlere Form“ erkennen. Es ist wohl anzunehmen, daß die Spirochätenansammlung auf dem Carcinom durch verschluckte Mundspirochäten entstanden war. Auch in dem versilberten Carcinomstückchen konnte ich sofort an den ulcerierten Stellen ohne weiteres zwei Typen von Spirochäten deutlich unterscheiden, eine größere dickere Art mit gröberen Windungen (entsprechend der *Spirochaete buccalis*) und eine kleine feinere Form, zum Teil dünner wie die *Pallida*, mit flacheren Windungen, entsprechend der *Spirochaete dentium*. Bei genauerem Zusehen war auch die „mittlere Art“ festzustellen. Die Differenzierung mancher Formen dieser letzteren Art von manchen in syphilitischen Organen zu findenden atypischen (ausgezogenen) Formen der *Pallida* ist kaum oder nicht möglich; die Größenverhältnisse sind fast gleich. Jedenfalls aber sind die Windungen der „mittleren Form“ im allgemeinen flacher, unregelmäßiger und größer. An einzelnen Stellen unter der Ulceration waren die Spirochäten auch ins Gewebe ziemlich tief eingedrungen und lagen dann hier sowie auch in verjauchten Partieen herdweise; an entfernter liegenden Teilen (nicht ulceriert) waren dagegen keine zu finden. Außer den Spirochäten waren auch Bakterien und Kokken schön schwarz gefärbt, aus denen man verschiedene Typen des Ausstrichpräparates, so unter anderem die fusiformen Bacillen, deutlich herausfinden konnte. Ueberhaupt färbten sich in meinen Kontrollpräparaten die Bakterien in der Regel recht gut schwarz, ein Beweis wieder, daß die Methode nicht nur eine Elektivfärbung für marklose Nervenfasern bedeutet. Geißeln waren an den Bakterien nicht zu bemerken. Vielleicht empfiehlt sich die Methode überhaupt zur Darstellung schwer färbbarer Bakterien (Rotz) im Gewebe.

Einen dem beschriebenen ähnlichen Befund konnte ich auch bei der Untersuchung von einer Colitis ulcerosa und einer Lungengangrän feststellen; in beiden gelang mir der Nachweis von Spirochäten neben einer Unmasse von Bakterien im Ausstrich sowohl wie in Levaditi-Schnitten. Die Spirochätentypen waren ähnlich wie bei dem ulcerierten Carcinom. In beiden Fällen waren die Spirochäten auch

stellenweise tief ins Gewebe eingedrungen und lagen dort haufenweise. — Bei einem ulcerierten Mammacarcinom fand ich dagegen keine Spirochäten oder Friedenthalsche Spiralen (10) (Metallniederschläge); Ausstriche von dem letzteren Falle hatte ich leider nicht zur Hand (vergl. hierzu auch Sakurane [24]).

Diese beschriebenen Befunde beweisen also nicht nur, daß sich mit der Versilberungsmethode Spirochäten im Gewebe gut darstellen lassen, sondern daß sich alsdann auch die bekannten Spirochätentypen unterscheiden lassen, vor allen Dingen die *Spirochaete pallida* von allen anderen. Die charakteristischen steilen, korkzieherartigen Windungen der *Pallida* habe ich nur in syphilitischen Organen gesehen.

Hier sei auch noch kurz auf die Angaben von Dreyer (7 u. 8) sowie Müller und Scherber (22) hingewiesen, die in Schnitten die *Pallida* von den *Refringens*- bezw. Balanitisspirochäten deutlich unterscheiden konnten; ähnlich konnte Róna (33) Spirochäten aus nekrotisierenden Prozessen von *Pallida* in Levaditi-Schnitten gut differenzieren. Sakurane unterschied bei einem breiten Kondylom im Schnitt *Refringens* deutlich von *Pallida*; auch erkannte er bei einem Hautcarcinom im Ausstrich gefundene Spirochäten vom *Refringens*-Typus deutlich im Schnitt wieder, von *Pallida* gut unterscheidbar.

Und nun noch ein Wort zu den Angaben Friedenthals (10). Er berichtet, daß es ihm „zufällig gelang", im Carcinomgewebe „Metallniederschläge zu erzeugen, welche den als *Sp. pallida* beschriebenen Silberspiralen zum Verwechseln ähnlich waren". Wie er diese „Quecksilberniederschläge in Spiralform" erzeugt hat, verrät er nicht. Statt dessen gibt er Abbildungen derselben, die ich nicht für Spirochäten halten kann, am allerwenigsten für eine *Pallida*. Nach Besprechung der Levaditi-Färbung der Silberspirochäte in syphilitischen Organen sagt sodann noch Friedenthal: „Diese Silberspirochäten sind durch Alkoholschrumpfung spiralig gewordene Teile von elastischen Fasern, marklosen Nervengeflechten und ähnliche Gewebsbestandteile." Diese Behauptung wird aber ebensowenig durch Anführung von eigenen Untersuchungsresultaten begründet wie die Friedenthalschen Bemerkungen über die Morphologie der *Pallida*. Daß jene Gebilde in Kontrollpräparaten niemals von anderen Autoren gefunden wurden, erscheint Friedenthal immerhin auffällig. Somit reduzieren sich die Einwände Friedenthals, der als ein Bestätiger der Schulze-Saling-Siegelschen Silberspirochätentheorie angeführt wird, auf größtenteils unbewiesene Behauptungen.

Nunmehr komme ich zu meinen eigenen, zur Nachprüfung dieser Theorie angestellten Kontrolluntersuchungen. Wie aus meiner Tabelle hervorgeht, habe ich 16 laut pathologisch-anatomischem Befund und Anamnese **normale Föten** untersucht, darunter stark (No. 9, 11 u. 16) und weniger stark mazerierte; den Fötus 19 habe ich 8 Tage lang liegen lassen, er war alsdann stark verwest (ähnlich so auch Fall 32). In keinem einzigen der von mir untersuchten 66 Organe von normalen Föten fand ich im Ausstrich oder im Schnitt eine *Spirochaete pallida* oder eine andere Spirochäte oder überhaupt Gebilde, bei denen ich nicht vor einer Verwechselung mit der echten „Silberspirochäte" sicher gewesen wäre. Nach meinen Erfahrungen lassen sich die Nerven-

fasern, worauf schon die ersten Silber-*Pallida*-Darsteller hinwiesen, nicht allzuschwer von den „Silberspirochäten“ in syphilitischen Organen unterscheiden. Ob es Nervenendfibrillen gibt, darüber mag sich Saling mit den Neurologen auseinandersetzen. Gewiß ist es berechtigt, bei den Syphilisuntersuchungen vor einer Verwechselung von Spirochäten mit Nervenendfasern zu warnen. Aber mit dieser Warnung bringt Saling nichts Neues. Es sei auf die vor der Salingschen Publikation in der Literatur erwähnten Kontrolluntersuchungen hingewiesen (u. a. auch insbesondere die von Beitzke [2]). — Nervenfasern der Großhirnrinde, von mir dargestellt, zeigten mitunter auf den ersten Blick eine gewisse Aehnlichkeit mit Hühner- und Rekurrensspirochäten in Silberschnitten, dagegen nicht mit der korkzieherartig gewundenen *Pallida*. Aber auch bei dem ersteren Vergleich waren bei näherem Zusehen die Unterschiede deutlich. Die Nervenfasern waren nicht eine so dick wie die andere; auch sah man solche, die in ihrem Verlauf an einzelnen Stellen dünner wurden. Sie waren aber meist dicker als die „Silberspirochäten“ sowie unregelmäßig und in der Regel flach gewunden; zwar bemerkte man mitunter im Verlauf auch einzelne steilere Windungen, doch immer größer als die der *Pallida*. Häufig waren deutliche Verzweigungen (diese sind bei den „Silberspirochäten“ in syphilitischen Organen nie zu finden) und spindelartige Anschwellungen im Verlauf der Fasern festzustellen. Die schwarzen Spiralen waren meist recht lang, wie ich es bei den Silberspirochäten in Syphilisorganen nie gesehen habe; oft zogen sie durch ein ganzes Gesichtsfeld hindurch. Ihre Färbung war nicht gleichmäßig; an dickeren Schnittstellen waren sie tiefschwarz, an dünneren häufig dunkelbraun mit schwarzen Einlagerungen. Es sei hier noch ausdrücklich bemerkt, daß ich in Giemsa-Ausstrichpräparaten keine den Nervenfasern entsprechende Fäden fand (auch nicht bei anderen Organen). Aehnlich wie mit den beschriebenen verhielt es sich auch mit den Nervenfasern in anderen Organen; nur waren sie da häufig kürzer und gestreckter sowie dicker, auch in stark mazerierten Föten. Bei einem normalen Fötus gelang es mir einmal sehr schön, die Nervengeflechte um die Arteriae interlobulares der Niere zur Darstellung zu bringen; ich sah ein ungleichmäßiges schwarzes Geflecht, dessen Fasern zum Teil unregelmäßig flach gewunden, zum Teil gestreckt erschienen, darunter kein einziges *Pallida*-ähnliches Gebilde. — Im übrigen muß ich bemerken, daß ich bei meinen vielen Kontroll- und anderen Untersuchungen den Eindruck gewonnen habe, als ob die Versilberungsmethode, wie ich sie ausübte, für die Färbung der Nervenfasern lange nicht so zuverlässig sei als für die Färbung von Spirochäten und verschiedenartigen Bakterien. In manchen von mir gefärbten normalen Organen kamen überhaupt keine schwarzen Spiralen (Nervenfasern oder dergl.) zur Darstellung, während andere mit diesen gleichzeitig in denselben Lösungen etc. versilberte Syphilisorgane die „Silberspirochäte“ massenhaft zeigten [1]). Auch war es auffallend, daß in syphilitischen

1) Vergl. hierzu auch die soeben erschienene Kritik der Salingschen Arbeit von Wolff (36) (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 2 u. 3), auf den Saling sich wiederholt in seinen Abhandlungen berufen hatte. Wolff sagt u. a.: „Saling beruft sich im weiteren Verlauf auf die Arbeiten von Apáthy, Bethe, Ramón y Cajal, Bielschowsky und mir, und gerade in unseren Arbeiten würde er, wenn er sie nur etwas mehr gelesen hätte, anstatt, wie er es getan zu haben scheint, nur auf Abbildungen irgend welcher krummer und geschwärzter Fibrillen Jagd zu

Organen, in denen die Spirochäten haufenweise nur an gewissen Stellen (um Gefäße oder ähnliches) lagern, an anderen, selbst größeren Partieen desselben gleichmäßig gefärbten Schnittes nicht nur keine Spirochäten, sondern auch keine Nervenfasern zu erkennen waren. Die Abwesenheit von Spirochäten an jenen Stellen erklärt sich aus der schon erwähnten Herdbildung. Dies drückte sich ja auch häufig, wie schon erwähnt, in den zugehörigen Ausstrichpräparaten aus. Warum aber die Nervenfasern sich nicht gefärbt haben sollten, während die hypothetischen Nervenfasern bezw. -endfibrillen Salings (in Wirklichkeit Spirochäten) im selben Präparat an den anderen Stellen klar und deutlich in großen Mengen zu sehen waren, könnte ich nicht erklären. Ich gestehe offen, daß ich in der Nervenhistologie nicht derart spezialistisch vorgebildet bin, daß ich allen Salingschen Theorieen folgen könnte. So kann ich es auch insbesondere nicht mit der mir bisher bekannten Nervenhistologie erklären, was die abgebildeten knäuel- und klumpenartigen Anhäufungen von „Silberspiralen" in manchen Organen, Milz, Leber, Lunge (vergl. Taf. I, Fig. 1 u. 2) nervenhistologisch darstellen sollen. Die Diskussion hierüber muß den Nervenhistologen und den pathologischen Anatomen überlassen bleiben, die sich sicherlich auch zu den Ausführungen Salings äußern werden, ebenso wie schon viele der von Saling zum Teil angegriffenen, zum Teil für seine Theorieen angeführten Autoren sich bereits energisch gewehrt bezw. Salings Angaben als unrichtig hingestellt haben. Bekannt sind mir bisher die Abhandlungen von Levaditi (18), Hoffmann (14), Blaschko (4), Gierke (12), Schmorl (30), Bab (1) und Wolff (37), deren Lektüre jedem Interessenten empfohlen sei.

Daß es sich bei den „Silberspirochäten" nicht um elastische Fasern (Saling und Anhänger) handelt, geht für mich daraus hervor, daß sie sich nicht mit der Weigertschen Färbungsmethode der elastischen Fasern darstellen ließen. Ich habe diese Färbung mit Herrn Dr. Dahm, der sich während früherer längerer pathologisch-anatomischer Tätigkeit viel mit dem Studium dieser Gebilde beschäftigt hatte, an verschiedenen syphilitischen und auch normalen Organen angewandt. In beiden färbten sich die elastischen Fasern schön violettblau, so besonders gut in und um die Gefäßwände. Sie waren aber keineswegs *Pallida*-artig gewunden, wie in den Levaditi-Schnitten, also etwas ganz Anderes. Die Weigertsche Methode brachte überhaupt kein einziges spirochätenähnliches Gebilde zur Darstellung, obgleich zur Färbung gerade die Syphilisorgane genommen waren, die bei der Levaditi-Färbung die meisten „Silberspirochäten" gezeigt hatten. Dagegen sahen wir nach der Weigertschen Färbung gerade in syphilitischen Organen viele elastische Fasern, die ich bei der Levaditi-Färbung nicht bemerkt hatte. Also auch diese Theorie von Saling und seinen Anhängern ist unbewiesen.

Außerdem seien hier noch weitere, sehr zeitraubende Kontrollunter-

machen, Hunderte von Angaben gefunden haben über die betrübende Heimtücke aller und nicht zuletzt gerade dieser ausgezeichneten neuesten Silbermethoden in ihren sämtlichen Modifikationen, wie sie von Ramón y Cajal, Bielschowsky und mir angegeben worden sind. Eine Heimtücke, die darin besteht, daß man — und zwar besonders in allen nicht spezifisch nervösen Organen und am allermeisten in der Haut — alles mögliche gefärbt bekommt, bloß die Nerven nicht, die man sucht." Und weiter: Gerade in der von mir (durch Saling) zitierten Arbeit habe ich gesagt, „daß auch unsere besten Methoden zur Darstellung der nervösen Elemente an einer wahren Manie leiden, alles andere an der Peripherie zu färben, bloß gerade nicht das Nervöse".

suchungen summarisch angeführt. Ich untersuchte noch auf dieselbe Weise wie bei den Föten Organsaftpräparate und Levaditi-Schnitte (Leber, Milz, Niere, Lunge, Pankreas, Herz und vor allem Nebennieren) von verschiedenen, zum Teil halbverwesten oder stark faulen Tieren (Kaninchen, Ratten, Mäusen, Meerschweinchen u. a.), von denen die meisten an Krankheiten zu Grunde gegangen waren, so an Infektion mit Fleischvergiftungsbakterien oder deren Giften, Kaninchenseuche, Diphtherie (hier besonders 4 Nebennieren), ferner Nebenniere von einem Pferd, das an Brustseuche eingegangen war u. s. w. Auch die inneren Organe von 2 Kaninchen mit erst nach 2 resp. 3 Monaten nach der Syphilisimpfung festgestellten positiven Hornhautaffektionen (in einem Falle deutliche Irispapel, von Dr. Clausen bestätigt) wurden gefärbt. Endlich sind noch anzuführen Schnittuntersuchungen von normaler und welker Körperhaut, Erysipelhaut, Zungenstückchen, Lepraknoten, einer phthisischen Kaverne und von Placentarresten von gesunden Frauen. Bei allen diesen zahlreichen Untersuchungen erhielt ich nicht ein einziges Präparat, das man auch nur im entferntesten mit einem „Silberspirochäten“ zeigenden Syphilisschnitt hätte vergleichen können; auch in Ausstrichen sah ich nie eine Spirochäte. Wohl gewahrt man nicht selten, so namentlich in Nebenniere, Pankreas, Lungen und Niere neben den Nervenfasern, über deren Verhalten in den untersuchten Objekten ich nur ähnliches sagen könnte wie vorhin bei den Föten, auch hell- bis dunkelbraun bis schwarz (je nach der Dicke des Schnittes) unregelmäßig gefärbte Gebilde, oft auch schwarz gekörnt, die auch sehr häufig grobe, ungleichmäßige Windungen zeigen. Ja, ich sah in der Nebenniere von einer Maus derartige „Spiralen“ in der Rinde (Nähe der Kapsel) von ziemlich regelmäßigen „steilen“ Windungen und dunkelbraunschwarz gefärbt. Bei Anwendung von Einstellung mit schwacher Vergrößerung, Okular 6 Trockensystem, konnte ich mit diesem Präparat minder geübte Untersucher täuschen; sie sprachen die Gebilde für Spirochäten (*Pallidae*) an, überzeugten sich dann aber bei folgender Betrachtung mit Immersion sofort von ihrem Irrtum.

Es wäre wünschenswert gewesen, wenn bei der Wiedergabe von Abbildungen von allen möglichen spiraligen Gebilden mehr Wert gelegt würde auf eine genaue Mitteilung der Vergrößerungen. Wenn Schulze (31) z. B. eine Anzahl Abbildungen zusammenstellt und betreffs dieses Punktes nur sagt: „die Vergrößerung beträgt 600 und 1000mal“, so kann man mit einer solchen Angabe nichts anfangen. Es ist sehr wesentlich, zu wissen, welche Photogramme 600fach und welche 1000fach vergrößert sind. Zusatz bei der Korektur: Auch muß man sich darüber wundern, daß Saling bei seiner Demonstration in der Berl. med. Gesellschaft am 21. Febr. 1907 Mikrophotogramme im Vergleich mit Zeichnungen vorführte, ohne jedesmalige Angabe, ob es sich um Zeichnung oder Mikrophotogramm handelte, und ohne daß es ihm möglich war, die Vergrößerungen bei den meisten Diapositiven genau anzugeben. Es wurde allerdings in einer späteren Sitzung versucht, dies nachzuholen. Im übrigen hatte ich meine Ansicht über Vergleiche von Photogrammen und Abbildungen schon früher präzisiert. Was auf diese Weise an Vergleichen möglich ist, zeigen die meiner Abhandlung beigegebenen, von Herrn Prof. Zettnow meisterhaft hergestellten Mikrophotogramme. Mit ihnen sind jedenfalls eher Vergleiche anzustellen als mit den Salingschen, den ver-

schiedensten Lehrbüchern entnommenen Zeichnungen und seinen Photogrammen [1]).

Zum Schluß sei noch aus der jüngst erschienenen Erwiderung von Gierke gegen Saling eine Aeußerung von Herrn Prof. Botezat erwähnt, den Saling auch als Bestätiger seiner Nervenendfibrillentheorie angeführt hatte. Botezat hatte sich zu einem ihm von Saling zugeschickten syphilitischen Nebennierenschnitt geäußert: Die fraglichen Silberspiralen seien geschrumpfte Nervenendfibrillen. — Gierke erhielt nun aber von demselben Nervenhistologen nach Einsendung eines von ihm gefärbten Levaditi-Schnittes von Leber und Lunge eines syphilitischen Fötus die Antwort: „Beide Präparate seien geeignet, die Anwesenheit von Spirochäten aufrecht zu erhalten, da sie ein individuelles Gepräge tragen"; es handele sich „um tatsächliche Ueberkreuzungen von 2 oder mehr Spirochäten, nicht organisch zusammenhängenden Elementen; bei Neurofibrillen müßte man wenigstens stellenweise Netze beobachten". Und weiter: „Ich glaube daher, daß die fraglichen Gebilde Organismen sind."

Auch ich halte es für bewiesen, daß die „Silberspirochäten" in syphilitischen Organen identisch sind mit der *Spirochaete pallida* Schaudinn-Hoffmann.

Ich halte nach den vorliegenden Untersuchungen die von Siegel anfangs Dezember 1906 in der Münch. med. Wochenschr. ausgesprochene Behauptung, daß die Einwände Salings, Schulzes und Friedenthals „noch eines sachlichen Widerlegungsversuches harrten", für hinfällig.

F. Versuche, die *Spirochaete pallida* zu züchten.

Alle meine bisherigen zahlreichen Versuche, die *Spirochaete pallida* auf künstlichen Nährböden zu züchten, sind ergebnislos gewesen. Nach der von mir bei der Kultivierung der *Spirochaete dentium* mit Erfolg angewendeten Methode (20) (auch mit den verschiedensten Modifikationen) sowie vielen anderen Methoden gelang es mir nicht einmal, eine Anreicherung der *Pallida* in Mischkultur zu erzielen, obgleich ich häufig Ausgangsmaterial hatte mit vielen Spirochäten, deren Lebensfähigkeit 2mal durch positive Kaninchenhornhautimpfung bewiesen werden konnte. Offenbar sind die Lebensbedingungen der *Pallida* doch andere als die der ihr in mancher Hinsicht ähnelnden feinen *Spirochaete dentium* sowie auch der dickeren Balanitisspirochäte.

G. Züchtung der „Balanitisspirochäte (?)".

Wie ich schon in einer früheren Arbeit (20) (p. 86) kurz mitteilte, ist mir in einem Falle von Balanitis erosiva die Züchtung der u. a. von Müller und Scherber (21) eingehend beschriebenen „welligen Fäden" (Spirochäten?) gelungen. Leider ist mir die Kultur in der 7. Generation während meiner Beurlaubung eingegangen. In derselben

1) Von diesen sagte kürzlich der schon zitierte Neurohistologe Wolff: „Niemals sehen Nervenendigungen so aus wie die Salingschen angeblichen Pseudospirochäten in der Haut. Saling photographierte ein dichtes Gewirr von kurz abgebrochenen spiraligen Fäden. So sehen Nerven überhaupt nicht aus, Bindegewebe höchstens in dünnen, schlecht montierten und zerrissenen Gefrierschnitten und bei oberflächlicher Betrachtung. Was Saling an Leber- und Pankreasnerven abbildet, hat mit solchen überhaupt nichts und mit Spirochäten vortäuschenden Strukturen erst recht nichts zu tun" u. s. w. (Die einzelnen Sätze sind von mir gesperrt.)

Zeit hatten sich die Kulturen der *Spirochaete dentium* unter denselben Bedingungen (bei 37°) in der 15. bis 19. Generation überimpfbar erhalten. Kürzlich gelang mir sogar eine Ueberimpfung von einer Zahnspirochätenkultur, die 5 Monate lang im Brutschrank gestanden hatte. Leider hatte ich nur noch einmal Gelegenheit, einen Züchtungsversuch der Balanitisspirochäte zu machen, der aber infolge Anwesenheit vieler stark gasbildender Mikroorganismen mißlang. Gleichwohl will ich die Kultur kurz beschreiben. Erwähnt sei noch, daß Müller und Scherber (21) früher schon über einen Kultivierungsversuch dieser „Spirochäten" in flüssigen Mischkulturen berichtet haben. Sie erhielten dieselben bis zur 3. Generation; alsdann wurden sie von anderen Mikroorganismen überwuchert.

Meine Züchtung geschah auf dieselbe Weise wie die der *Spirochaete dentium*: Ich machte Verdünnungen des Ausgangsmaterials in Schüttelkulturen von Pferdeserumagar in hoher Schicht. Dabei erhielt ich gleich in der ersten Generation nach 8-tägigem Wachstum in einzelnen Röhrchen Kolonieen, die von denen der *Sp. dentium* nicht zu unterscheiden waren. Die Stichreinkultur gelang von den isolierten Kolonieen gleich. Auch in der Stichkultur zeigte sich ein dem Wachstum der *Sp. dentium* ähnliches Verhalten; nur wurden die etwas schneller wachsenden Kulturen meist bald dichter und größer. Der Stich war viel dicker, die Einzelkolonieen deutlicher als dicke weißliche Wolken erkennbar. Bei nicht allzudichten Stichen konnte man oft „perlschnurartiges" Wachstum in der Stichlinie beobachten infolge Aneinanderreihens der Einzelkolonieen (ähnlich wie bei *Sp. dentium*, vergl. daselbst Abbild. Taf. I). Das Wachstum erfolgte wie bei den Zahnspirochäten nur unter streng anaëroben Bedingungen und nur in serumhaltigen Nährböden. Die Kulturen zeigten ebenfalls einen üblen Geruch, ähnlich wie bei *Sp. dentium* und Bacillus fusiformis, außerdem war er noch etwas säuerlich.

Bei Lebenduntersuchung waren deutliche, allerdings träge Bewegungen zu erkennen. Die unbeweglichen Exemplare waren meist gestreckt oder nur wenig gewunden. — Auch im gefärbten Präparat (Färbung gelang leicht) fand man alle Uebergänge zwischen gestreckten und spiralig gewundenen Formen (Windungen weit), letztere namentlich da, wo die „Fäden" noch an einem Agarklümpchen festsaßen; an solchen Stellen zeigten sie auch am deutlichsten Bewegung. In einem Präparat (4. Generation) sah ich ein Teilungsbild, 2 Spirochäten durch feinere Brücke verbunden (ähnlich dem von Hoffmann und Prowazek [16] abgebildeten, Fig. 4).

Irgend eine pathogene Wirkung bei Tieren mit der Reinkultur zu erzielen, gelang mir nicht. Allerdings verfüge ich nur über 3 Versuche: Impfen eines Affen an Eichel und Vorhaut, subkutane Einspritzung bei einem Affen und Corneaimpfung bei einem Kaninchen.

Bemerken will ich hier auch noch, daß ich bei Corneaimpfungen mit Reinkultur von *Sp. dentium* nie eine pathogene Wirkung sah.

Zusammenfassung.

Aus meinen Untersuchungen geht folgendes hervor:

1) Zum sicheren Nachweis der *Spirochaete pallida*, namentlich in Organausstrichen, bedarf es der Uebung und einer sorgfältigsten Untersuchungstechnik.

2) In den von mir untersuchten 22 klinisch sicheren Primäraffekten wurde die *Sp. pallida* regelmäßig gefunden, mitunter fast in Rein-

kultur in großen Mengen; in nicht syphilitischen Schankern fand ich dagegen keine. In 6 von 7 untersuchten syphilitischen Bubonen fand ich *Sp. pallida.*

3) Der Typus der *Sp. pallida* ist von anderen Spirochätentypen sicher zu unterscheiden.

4) In allen (16) Fällen, auch bei nicht mazerierten Föten, wurde von mir in Organen von sicher syphilitischen Individuen (fast stets in mehreren Organen gleichzeitig) die *Sp. pallida* in nach der sogenannten Levaditi-Methode versilberten Schnitten und vorher ebenfalls in Ausstrichen derselben Organe nahezu konstant nachgewiesen. Die Zahl der Spirochäten in gut gelungenen Ausstrichen schwankte im allgemeinen je nach der Menge in Organschnitten.

5) In Organen von 18 sicher nicht syphilitischen Föten, auch bei mazerierten, waren niemals irgend welche Spirochäten durch Schnitt- oder Ausstrichuntersuchung festzustellen.

6) Bei 18 Paralleluntersuchungen auf *Sp. pallida* und unabhängig davon auf spezifische Reaktion der Organextrakte (Abt. Prof. Wassermann) bestätigte schon der Befund meiner Giemsa-Ausstrichpräparate sowie später auch der Schnitte das Resultat der biologischen Reaktion (9mal positiv, 9mal negativ). Das Resultat entsprach dem pathologisch-anatomischen Befund.

7) Die nach der Volpino-Bertarelli-Levaditi-Methode dargestellten „Silberspiralen“ in luetischen Organen sind Spirochäten, und zwar *Sp. pallidae.* Denn:

a) Mit der Methode lassen sich Spirochäten (Hühner-, Recurrens-, Carcinom-, Darmspirochäten etc.) einwandsfrei darstellen;
b) die vorgenannten Spirochäten zeigen untereinander verschiedenen Typus. Nur Recurrens- und Hühnerspirochäten sind voneinander nicht zu unterscheiden. Diese in den Levaditi-Schnitten trennbaren Typen entsprechen den in den zugehörigen Giemsa-Ausstrichpräparaten dargestellten Spirochäten;
c) die bisher genannten Typen lassen sich von denen der *Sp. pallida* in Ausstrichen und den „Silberspirochäten“ in syphilitischen Organen trennen;
d) der nur in Schnitten von syphilitischen Organen und Affektionen zu findende Typus entspricht dem der *Sp. pallida* in Ausstrichen derselben Organe etc. nicht nur, sondern auch dem in primären und sekundären luetischen Affektionen nachzuweisenden Typus;
e) der Nachweis der *Sp. pallida* (und nur dieser) nebeneinander im Giemsa-Ausstrich und im Levaditi-Schnitt von luetischen Organen ist bei sorgfältigster Untersuchungstechnik möglich;
f) die in Organschnitten dargestellten Spirochäten, vor allem aber die „Silberspiralen“ mit steilen Windungen in syphilitischen Organen, lassen sich von Nervenfasern, elastischen Fasern u. dergl. durch Färbung und Gestalt unterscheiden;
g) bei einer sehr großen Zahl der mannigfaltigsten Kontrolluntersuchungen habe ich niemals „Silberspiralen“ gesehen, die denen bei kongenitaler Syphilis regelmäßig gefundenen in Anordnung und Gestalt entsprachen.

8) Die Verbreitung der korkzieherartig gewundenen „Silberspirochäten“ entspricht im allgemeinen den pathologisch-anatomischen Veränderungen der luetischen Organe.

9) Die Levaditi-Methode bringt die Spirochäten im Gewebe

sicherer zur Darstellung als die Nervenfasern. Auch färbt sie die verschiedensten Bakterien schwarz.

10) In einem von mir mit Stabsarzt Roscher untersuchten a priori syphilisunverdächtigen Falle (Primäraffekt vollkommen unbekannt) wurde der auf *Pallida*-Befund in einer Leistendrüse hin entstandene Syphilisverdacht durch den klinischen Verlauf (typisches Exanthem) vollkommen bestätigt. — Der *Pallida*-Nachweis in Drüsen ist von großem diagnostischen Wert.

11) In Präparaten von mit unter 10) genanntem Drüsensaft geimpften Kaninchenhornhäuten (Keratitis parenchymatosa) konnte die *Sp. pallida* in Giemsa-Ausstrichpräparaten (auch in Gewebsstückchen) sowie lebend in zahlreicher Menge wiederholt nachgewiesen werden.

12) Die Kultivierung der *Sp. pallida* gelang mir im Gegensatz zu der der Zahn- und Balanitisspirochäte nicht.

Wenn auch das letzte Glied in der Beweiskette der ätiologischen Bedeutung der *Spirochaete pallida*: die Reinzüchtung und Erzeugung der Krankheit mit der Kultur, noch fehlt, so halte ich doch auf Grund vorstehender Untersuchungen im Zusammenhang mit der Literatur die *Spirochaete pallida* mit allergrößter Wahrscheinlichkeit für den Erreger der Syphilis.

Nachtrag: Nach Abschluß dieser Arbeit fanden Herr Prof. Frosch und ich die *Pallida*-Spirochäten auch gleich in dem ersten daraufhin untersuchten Fall von kongenitaler Lues lebend und beweglich in großer Zahl im Organsaft. Es handelte sich um uns von Herrn Oberarzt Dr. Buschke freundlichst zur Verfügung gestellte Stückchen von Leber, Nebenniere und Lunge eines 4 Tage post partum verstorbenen und 1 Stunde später sezierten, also nicht mazerierten Kindes. Auch in den Giemsa-Ausstrichpräparaten der Organe waren die Spirochäten in zahllosen Mengen; so zählte ich in einem Nebennierenausstrich in einem Gesichtsfeld an 50 Spirochäten.

Ein von Keratitis parenchymatosa luetica des Kaninchens (— nach Drüsensaftimpfung entstanden, im ersten Teil beschrieben —) geimpfter Affe (*Macacus*) zeigte bereits nach 12—14 Tagen einen deutlichen Primäraffekt.

Eine auffallend lange Inkubation bis zum Auftreten einer Keratitis beim Kaninchen konnte ich kürzlich feststellen, und zwar von $3^1/_2$ Monaten nach der Impfung mit Primäraffektsaft. Das alsdann eine typische Keratitis parenchymatosa zeigende Auge war inzwischen ganz gesund gewesen. In Ausstrichpräparaten von abgekratzter Hornhautsubstanz, nach Giemsa gefärbt, fand ich gleich wieder eine große Anzahl *Spirochaetae pallidae*, und zwar in manchen Gesichtsfeldern 5—10. Dieser Ausstrichbefund ist somit bisher bei allen 3 von mir in dieser Weise untersuchten Kaninchen erhoben worden. — Bereits früher hatte ich schon einmal bei einem Kaninchen eine Inkubation von $2^1/_4$ Monaten beobachtet.

Literatur.

1) Bab, H., Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 49.
2) Beitzke, H., Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 24.
3) Bertarelli, E., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. H. 4.
4) Blaschko, A., Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 38.
5) Buschke, A. und Fischer, W., Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 20 u. 21.
6) — —, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LXXXII. 1906. H. 1.
7) Dreyer, Med. Klinik. 1906. No. 51.

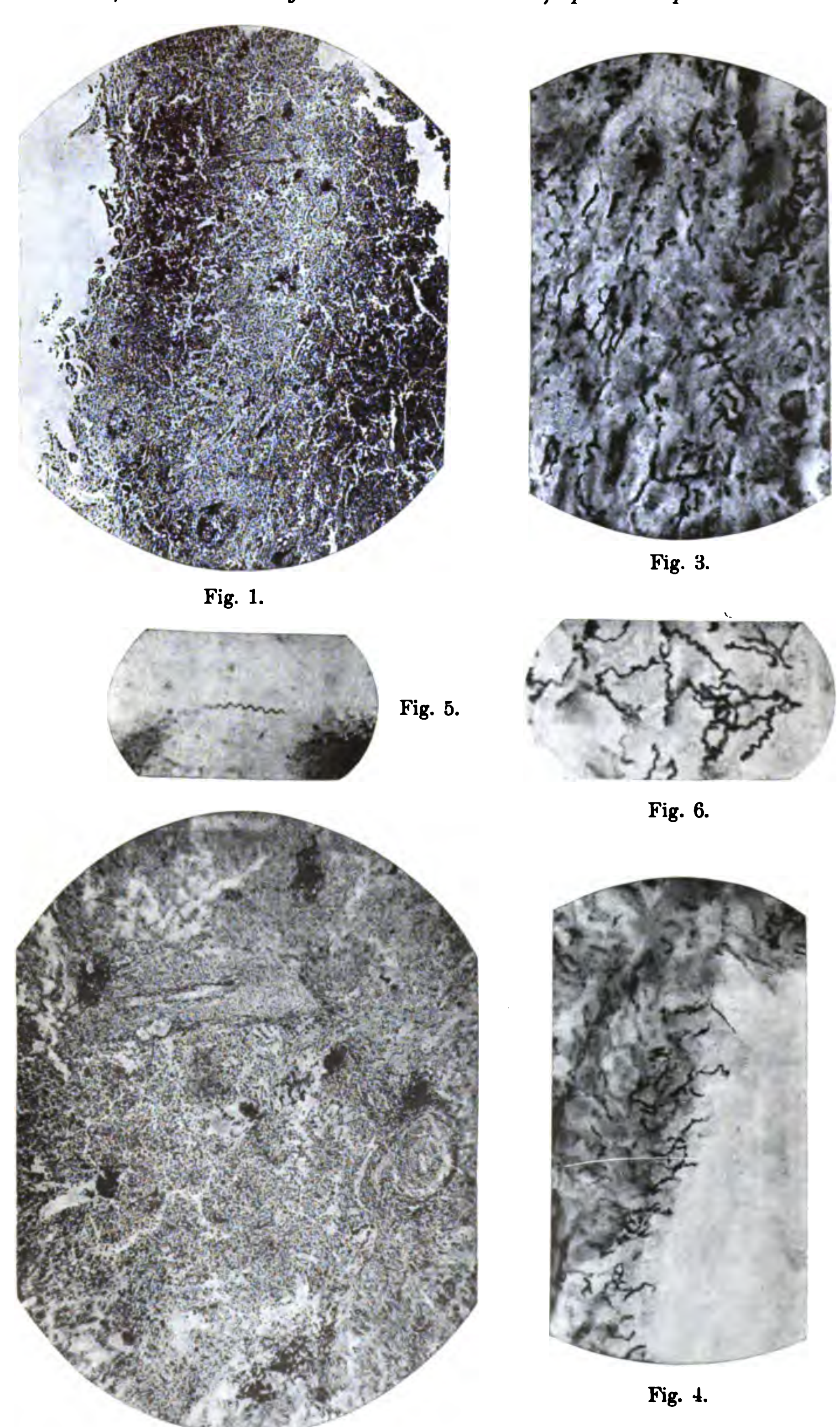


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

E. Zettnow phot. Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

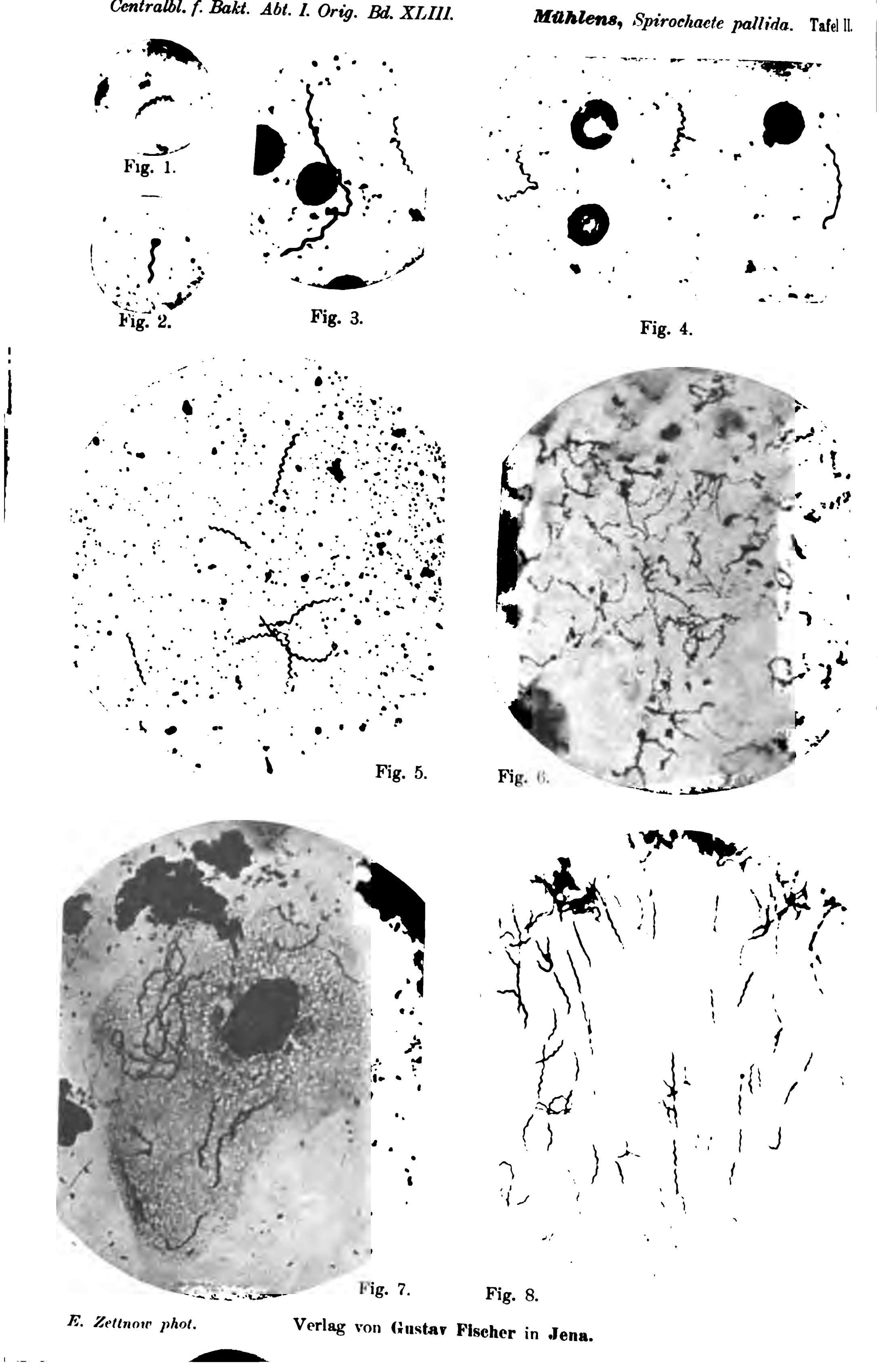


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

E. Zettnow phot.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

8) Dreyer, Dermatol. Centralbl. 1906. No. 2.
9) Entz, B., Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LXXXI. 1906. H. 1.
10) Friedenthal, H., Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 37.
11) Gierke, E., Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 9.
12) — —, Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 3.
13) Glass, J., Inaug.-Diss. Leipzig (Bruno Georgi) 1906.
14) Hoffmann, E., Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 44.
15) — —, Berlin (Jul. Springer) 1906.
16) — — und v. Prowazek, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. H. 7 u. 8.
17) Landsteiner, K. und Mucha, V., Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 45.
18) Levaditi, C., Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 42.
19) Mühlens, P. und Hartmann, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. H. 1, 2, 3 u. 4.
20) — —, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LV. 1906. H. 1.
21) Müller, R. und Scherber, G., Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LXXVII. 1905.
22) — —, Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 21.
23) Róna, S., IX. Kongr. d. dermat. Ges. zu Bern. 1906.
24) Sakurane, K., Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LXXXII. 1906. H. 2.
25) Saling, Th., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. H. 7 u. 8. Bd. XLII. H. 1 u. 2.
26) — —, Wien. klin. Rundschau. 1906. No. 47 u. 48.
27) — —, Sitzungsber. d. Gesellsch. naturf. Freunde. 1906. No. 9.
28) Schaudinn, F. und Hoffmann, E., Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Bd. XXII. H. 2.
29) Schlimpert, H., Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 26.
30) Schmorl, Ref. Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 4.
31) Schulze, W., Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 37.
32) — —, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 52.
33) Siegel, J., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. H. 2.
34) Wallich et Levaditi, Annal. de gyn. et d'obst. 1906. Febr.
35) Wassermann und Plaut, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 44.
36) Wechselmann und Loewenthal, Med. Klinik. 1905. No. 33.
37) Wolff, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. H. 2 u. 3.

Tafelerklärung.

Die sämtlichen Mikrophotogramme sind aufgenommen von Herrn Prof. Zettnow.

Tafel I.

Vergleiche hierzu die Ausführungen auf p. 680 im Text.

Fig. 1. Milzschnitt von luetischem Fötus (nach Levaditi) mit schwarzen klumpen- und haufenartigen Ansammlungen von Spirochäten. Vergr. 1 : 31,5.

Fig. 2. Derselbe Schnitt. Vergr. 1 : 90.

Fig. 3. *Spirochaetae pallidae* aus demselben Organ. Vergr. 1 : 900.

Fig. 4. Spirochäten am Lumen der Gefäßwand aus luetischem Leberschnitt (nach Levaditi). Vergr. 1 : 900.

Fig. 5. *Spirochaete pallida* aus luetischem Organausstrich (Giemsa-Färbung). Vergr. 1 : 1350.

Fig. 6. *Spirochaete pallida* in luetischer Leber (nach Levaditi). Vergr. 1 : 1350.

Tafel II.

Fig. 1. *Spirochaete pallida* aus Milzausstrich (Giemsa-Färbung). Vergr. 1 : 1000.

Fig. 2. Balanitisspirochäte mit knopfartiger Anschwellung (Giemsa-Färbung, absichtlich überfärbt). Vergr. 1 : 1000.

Fig. 3 u. 4. Balanitisspirochäten (*Refringens?*) und *Spirochaetae pallidae* nebeneinander in einem Ulcus mixtum (überfärbt wie Fig. 2). Vergr. 1 : 1000.

Fig. 5. *Spirochaetae pallidae* aus einem Ulcus durum (Giemsa-Färbung). Vergr 1 : 1000.

Fig. 6. *Spirochaetae pallidae* aus Leberschnitt (nach Levaditi). Vergr. 1 : 1000.

Fig. 7. Balanitisspirochäten in einer Epithelzelle (Giemsa-Färbung, schwach gefärbt). Vergr. 1 : 1000.

Fig. 8. *Spirochaetae dentium* aus Reinkultur (Giemsa-Färbung). Vergr. 1 : 1000.

Zur Trypanosomeninfektion durch die Schleimhaut des Verdauungstraktes.

[Aus dem K. Institut für experimentelle Medizin zu St. Petersburg. Abteilung: A. Wladimiroff.]

Von **W. L. Yakimoff** und **Nadeshda Schiller.**

Im allgemeinen ist als feststehend zu betrachten, daß die Infektion mit Trypanosomen dadurch zu stande kommt, daß diese Parasiten durch Insekten (eventuell auch andere Ueberträger) von kranken Tieren auf gesunde überimpft werden.

Für die Nagana ist die Tsetsefliege (*Glossina morsitans*, vielleicht auch *Glossina pallipes*) mit voller Sicherheit als Ueberträgerin erkannt worden (1). Bei dem Mal de Caderas beschuldigt Voges (2) die unter dem örtlichen Namen *Mosca brava* bekannten Fliegen, welche Sivori und Lecler (3) als *Stomoxys calcitrans* und *Stomoxys nebulosa* bestimmt haben; es gelang ihnen sogar, Pferde dadurch zu infizieren, daß sie sie dem Bisse dieser Fliegen aussetzten, welche vordem das Blut kranker Tiere gesogen hatten. Was die Surra betrifft, so hält Evans (4) die Ansicht der Eingeborenen Indiens für berechtigt, daß die Uebertragung durch die Fliegen Burra-Dhang (*Tabanus tropicus* und *Tabanus lincola*) besorgt wird. Auf Java fiel während einer Surraepizootie die Fülle von Fliegen in den Ställen auf; bei der Untersuchung fand man bei ihnen für Kaninchen pathogene Trypanosomen. Nach Schat (5) ist die Hauptvermittlerin der Surra die *Stomoxys calcitrans*; auf Mauritius soll es die *Stomoxys nigra* sein. Auch durch Flöhe ist es Mussgrave und Clegg (6) gelungen, die Surra zwischen Hunden und Ratten zu übertragen. Als Vermittlerin der Gambian-Horse-Trypanosomiasis nehmen Dutton und Todd (7) die *Glossina palpalis* (*tachinoides*) an, obwohl sie weder mit diesem Insekt, noch auch mit 2 Arten *Stomoxys* positive Versuchsresultate erzielen konnten. An der Verbreitung der Galziekte ist Theiler (8) geneigt, die *Hippobosca rufipes* zu beschuldigen. Als Zwischenträgerin der Schlafkrankheit wird gegenwärtig eine Tsetseart (*Glossina palpalis*) angesehen [Bruce und Nabarro (9)], als diejenige der nordafrikanischen Kameelskrankheit, El-Debab, das mit dem örtlichen Namen Debab belegte Insekt [Gebrüder Sergent (10)]; letzteres soll nach den Eingeborenen von Timbuktu auch die sudanische Kameelstrypanosomose, Mbori, vermitteln. Die sudanische Trypanosomose des Rindes, Soumaya, wird nach Cazalbou (11) durch eine *Tabanus*-Art übertragen. Obwohl die Beschälseuche (Dourine) normalerweise per coitum unter den Pferden weiter verimpft wird, kann sie nach den Versuchen von Lydia Rabinowitsch und Kempner (12) auch durch Flöhe (unter Ratten einerlei Geschlechtes) übertragen werden; nach Lingard (13) sollen auch Fliegen dazu im stande sein. Die *Trypanosoma Lewisi* wird unter den Ratten durch Läuse [Laveran und Mesnil (14)] und Flöhe [Rabinowitsch und Kempner (15)] propagiert. An der Uebertragung der Vogeltrypanosomen beschuldigt Schaudinn (16) den *Culex pipiens*. Was die Trypanosomen der Reptilien, Frösche und Fische anbetrifft, so dürfte die Vermittlerrolle den Blutegeln zufallen (1, 17—21).

Wenn somit als Regel zu betrachten ist, daß die Trypanosomen durch Blutsauger von Tier auf Tier übertragen werden, so ist noch

keineswegs jeder andere Infektionsmodus ausgeschlossen und zwar kommt hier vor allem die Möglichkeit einer Infektion durch den Magendarmtraktus in Betracht.

Die Zulus sind der Ansicht, welche übrigens Bruce (22) bestätigen konnte, daß die Nagana ursprünglich eine Krankheit des Wildes ist. Letzteres soll mit seinen Ausleerungen die Weiden des zahmen Viehs infizieren. Laveran und Mesnil (1) halten diesen Weg der Ansteckung für die Herbivoren für unwahrscheinlich, geben aber die Möglichkeit zu, daß Fleischfresser, z. B. Hunde (eine Beobachtung von Bruce) sich beim Verzehren von Naganaleichen durch Wunden an der Haut oder den Schleimhäuten infizieren. Diese Deutung geben sie auch ihren eigenen Laboratoriumsbeobachtungen, sowie denen von Chantemesse (1) und Lacomme (28), wobei Katzen infolge von Verzehren an Nagana gefallener Mäuse, Ratten oder Meerschweinchen selbst an dieser Krankheit eingingen. Ebenso verhält es sich mit der Surra. Lingards (23) Ansicht, daß die Verbreitung dieser Krankheit durch infiziertes Wasser oder Wiesengras vor sich gehen kann, wird von Rogers (24) und von Laveran und Mesnil (1) bestritten. Andererseits sind Fälle bekannt, in denen Hunde durch Fressen von Surraleichen [Steel (25), Penning (26), Lingard (23)] oder durch Trinken von trypanosomenhaltigem Rinderblut [Deixonne (1)] an Surra erkrankt sind. Auch experimentell ist die Ansteckung mit Surra im Fütterungsversuche Laveran und Mesnil an Ratten gelungen. Jedoch halten sie, wie bereits erwähnt, an der Anschauung fest, daß die Trypanosomen überhaupt nicht durch die unversehrten Schleimhäute in den Organismus eindringen können, sondern nur durch vorhandene Kontinuitätstrennungen, leugnen daher diesen Infektionsmodus auch für das Mal de Caderas [Ronget (29)] und das *Trypanosoma Lewisi*, obwohl Francis (27) mit letzterem positive Resultate erzielt hat.

Bei der Beschälseuche der Pferde ist ebenfalls die Annahme möglich, daß die Trypanosomen nur durch Verletzungen der Schleimhaut eindringen, welche durch den Begattungsakt selbst gesetzt werden. Demgegenüber stehen die Versuche von Rouget (29), Laveran und Mesnil (1) und Buffard und Schneider (30), in denen Kaninchen nach Einführung von Beschälseuchetrypanosomen in die unverletzten Geschlechtswege an Dourine erkrankten, sowie ein analoges Experiment Marecks am Pferde.

Aus Gesagtem ist ersichtlich, daß die Frage von der Möglichkeit einer Infektion mit Trypanosomen durch unversehrte Schleimhäute, speziell diejenigen des Verdauungstraktes, noch nicht endgültig gelöst ist. Eine weitere Bearbeitung derselben schien uns um so mehr geboten, als auch die Verbreitung anderer Blutparasiten sich in der Praxis nicht immer in genügender Weise durch die Zwischenträgertheorie erklären läßt und zum Aufsuchen anderer Infektionswege herausfordert.

In einem Vorversuche war es dem Einen von uns schon vor 2 Jahren gelungen, eine graue Ratte dadurch zu infizieren, daß er sie mit den Organen einer weißen Ratte fütterte, welche *Tryp. Lewisi* enthielten. Nach einigen Tagen traten die Trypanosomen im Blute des gefütterten Tieres auf.

Die nachfolgenden systematischen Fütterungsversuche sind an Kaninchen, Meerschweinchen, Hund, Ratten und Mäusen ausgeführt.

I. Kaninchen.

Das Infektionsmaterial für die Kaninchen verschafften wir uns in der Weise, daß wir Mäuse oder Ratten infizierten, in deren Blute sich die Trypanosomen bekanntlich besonders üppig entwickeln, und diese Tiere auf dem Höhestadium der Krankheit durch Chloroform töteten. Darauf wurden die parenchymatösen Organe (Leber, Milz, Nieren, Lungen und Herz) sowie das bei der Sektion in die Körperhöhlen ergossene Blut sorgfältig in einem Mörser gesammelt und mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer Emulsion verrieben, welche zur Entfernung gröberer Partikel noch durch Marlee gegossen wurde.

Im Beginn der Versuche glaubten wir die Kaninchen einer Vorbehandlung unterwerfen zu müssen, welche in einem der folgenden Eingriffe bestand:

a) zur Verringerung der Peristaltik wurde Tinct. opii simpl. (0,5—1,0) in die Bauchhöhle gespritzt und der Magen zur Neutralisierung seines Saftes durch einen weichen Katheter mit 1-proz. Lösung von Natr. bicarb. ausgespült;

b) nur Opiuminjektion ohne Magenspülung;

c) nur Neutralisierung des Magensaftes ohne Opiuminjektion.

Außerdem haben wir anfänglich einige Tiere vor dem Fütterungsversuche 6 Stunden lang hungern lassen. Alle diese Vorbereitungen gaben wir jedoch auf, sobald wir erkannten, daß die Infektion auch ohne sie zu stande kommen kann. Insbesondere erwies sich das Hungern als nutzlos: von 3 Hungerkaninchen erkrankte keines, von den übrigen 7 blieben nur 2 gesund.

Die Fütterung wurde unter allen Kautelen zur Vermeidung von Schleimhautverletzungen ausgeführt. Die kleine hölzerne Maulsperrvorrichtung war mit weichem Gummi verkleidet, der feine elastische Katheter reichlich mit Vaselin bestrichen. Durch letzteren wurde die Trypanosomenemulsion eingeführt und in den Fällen von Magensaftneutralisation unmittelbar vorher (ohne Katheterwechsel) auch die Ausspülung vorgenommen.

Einige Tage nach Einführung der Trypanosomen in den Magen begannen wir dieselben im Blute zu suchen. Da jedoch gerade bei Kaninchen die Trypanosomen im Blute bisweilen so gering an Zahl sind, daß sie leicht übersehen werden können, so begnügten wir uns nicht mit der mikroskopischen Untersuchung, sondern spritzten das Blut gleichzeitig weißen Mäusen unter die Haut. In der Tat trat bei den Mäusen nicht selten die Infektion ein, wenn die Parasiten unter dem Mikroskop noch nicht zu entdecken waren.

Von im ganzen 10 Kaninchen, welche mit verschiedenen Trypanosomen (Nagana, El-Debab und Dourine) in verschiedener Weise gefüttert worden waren, erkrankten 5. Die größte Infektionsziffer ergaben diejenigen, welche mit Natr. bicarb. und Opium vorbehandelt waren: es erkrankten alle 3 Tiere, und zwar, ohne vorher gehungert zu haben. Von 2 Kaninchen, die nur Opiuminjektion erhalten hatten, erkrankte 1, und zwar gerade dasjenige, welches nicht gehungert hatte. Ein Kaninchen, dem nur der Magensaft neutralisiert worden war, erkrankte nicht; dieses Tier hatte gehungert. Unter 4 Kaninchen ohne Vorbehandlung erkrankte nur 1; es hatte nicht gehungert, wie auch 2 andere Tiere derselben Gruppe.

Nach diesen Versuchen ist zu schließen, daß bei Kaninchen eine Trypanosomeninfektion durch die Schleimhaut des Verdauungstraktes auch ohne Verringerung der Peristaltik und ohne Abstumpfung der

Magensäure möglich ist. Jedenfalls aber unterstützen diese Faktoren die Infektion, wie aus folgendem Beispiel besonders ersichtlich ist: ein Kaninchen, welches ohne jegliche Vorbehandlung nach Fütterung mit Trypanosomen der Beschälseuche (Dourine) gesund geblieben war, erkrankte bei einem zweiten Versuche, als ihm nach vorausgegangener Opiuminjektion und Magenspülung dieselben Trypanosomen eingegossen wurden.

Im einzelnen genommen, scheint nach unseren Versuchen die Neutralisierung des Mageninhaltes keine wesentliche Rolle zu spielen, während die Herabsetzung der Peristaltik offenbar die Infektion begünstigt.

Die Inkubationsdauer war bei allen 5 erkrankten Kaninchen ungefähr die gleiche: 4—5—6 Tage.

Was die Bedeutung der Trypanosomenarten anbetrifft, mit denen wir die Kaninchen gefüttert haben, so ergeben unsere Beobachtungen folgendes. Am leichtesten gelang die Infektion mit den Trypanosomen der Nagana und des El-Debab, da alle 4 Versuchstiere erkrankten. Beide Nagana-Kaninchen hatten nicht zuvor gehungert; das eine von ihnen war mit Opium und Natr. bicarb. vorbehandelt, das andere war ohne jede Vorbehandlung geblieben. Die El-Debab-Kaninchen hatten ebenfalls nicht gehungert; das eine war nur mit Opium, das andere außerdem auch noch mit Natr. bicarb. vorbehandelt worden. Im Gegensatz zu diesen Resultaten ist von 6 Dourine-Kaninchen nur 1 erkrankt, und zwar dasjenige, welches nicht gehungert hatte, aber mit Opium und Natr. bicarb. vorbehandelt worden war. Von den übrigen, nicht erkrankten Tieren hatte 1 nur Opium erhalten, ein zweites nur Natr. bicarb. (beide hatten gehungert); 3 (von denen ebenfalls 1 gehungert hatte) waren ohne Vorbehandlung geblieben.

Nachstehende Tabelle gibt eine Uebersicht über die an Kaninchen erhaltenen Resultate.

Tabelle I.

Vorbehandlung		Nagana	El-Debab	Dourine	Summa
Opium und Natr. bicarb.	Zahl der Kaninchen	1	1	1	3
	Mit (+) oder ohne (—) vorhergehende Hungerperiode	—	—	—	3 —
	Infektionsergebnis	+	+	+	3 +
	Inkubation in Tagen	5	5	6	
Opium	Zahl der Kaninchen		1	1	2
	Mit (+) oder ohne (—) vorhergehende Hungerperiode		—	+	1 + 1 —
	Infektionsergebnis		+	—	1 + 1 —
	Inkubation in Tagen		4		
Natr. bicarb.	Zahl der Kaninchen			1	1
	Mit (+) oder ohne (—) vorhergehende Hungerperiode			+	1 +
	Infektionsergebnis			—	1 —
	Inkubation in Tagen				
Keine Vorbehandlung	Zahl der Kaninchen	1		3	4
	Mit (+) oder ohne (—) vorhergehende Hungerperiode	—		1 + 2 —	1 + 3 —
	Infektionsergebnis	+		3 —	1 + 3 —
	Inkubation in Tagen	6			
Gesamtzahlen der Kaninchen		2	2	6	10
Positive Resultate		2	2	1	5
Negative Resultate		0	0	5	5

II. Meerschweinchen.

Die Meerschweinchen haben wir in unseren Versuchen weder mit Opium noch mit Natr. bicarb. vorbehandelt. Nur 2 Tiere ließen wir vor der Fütterung hungern; von ihnen wurde das eine gleichzeitig und mit demselben Materiale gefüttert wie ein Kontrollexemplar, welches nicht zuvor gehungert hatte. Da beide letztgenannten Tiere der Infektion erlagen, so ließen wir auch diese Vorbehandlung im weiteren als belanglos fallen.

Die Fütterung geschah in der Weise, daß den Meerschweinchen entweder Organteilchen von totchloroformierten Tieren oder mit Blut resp. Organemulsion getränkte weiche Brotstückchen vorsichtig mit den Fingern oder mit einer speziell hergerichteten Pincette, deren Enden in weiches Gummi gekleidet waren, in die Mundhöhle praktiziert wurden. Für den Effekt war es gleichgültig, ob Organteilchen oder getränktes Brot zur Anwendung kam. Wir gaben im allgemeinen ersteren den Vorzug.

Von 12 gefütterten Meerschweinchen erkrankten 5, bei denen sich die Trypanosomen 7—9 Tage nach der Fütterung im Blute zeigten. Da wir zur Prüfung des Blutes keine Kontrollmäuse infizierten, sondern uns mit der mikroskopischen Untersuchung begnügten, so ist es nicht ausgeschlossen, daß das Blut schon vor den angegebenen Terminen Trypanosomen enthielt, jedenfalls aber in so geringer Zahl, daß sie sich der Aufdeckung durch das Mikroskop entzogen. In diesem Sinne ist folgende Beobachtung lehrreich: Von 2 Meerschweinchen, welche gleichzeitig mit Naganatrypanosomen derselben Abstammung gefüttert worden waren, zeigte das eine nach 9 Tagen die Parasiten im Blute; das andere war aber schon nach 7 Tagen eingegangen, ohne daß in seinem Kreislaufe Trypanosomen mikroskopisch nachzuweisen gewesen wären, und dennoch erwies sich sein Herzblut, einer Maus eingespritzt, als infektiös.

Das Blut der Meerschweinchen, bei denen die Infektion nicht angeschlagen hatte, untersuchten wir im Laufe von 52—101 Tagen.

Einige Meerschweinchen sind offenbar besonders resistent gegen die Infektion durch den Verdauungstraktus, da sie 2—3 und sogar 4mal wiederholter Fütterung widerstanden.

Tabelle II.

	Surra	Nagana		Mal de Caderas	El-Debab	Dourine	Summa
Zahl der Meerschweinchen	4	3		2	1	2	12
Mit (+) oder ohne (—) vorhergeh. Hungerperiode	—	1 +	2 —	—	+	—	2 + 10 —
Infektionsergebnis	2 + 2 —	+	1 + 1 —	—	+	—	5 + 7 —
Inkubation in Tagen	8. 9	9	7		7		
Gesamtzahl der Meerschweinchen	4	3		2	1	2	12
Positive Resultate	2	2		0	1	0	5
Negative Resultate	2	1		2	0	2	7

Von den angewandten Trypanosomenarten erwiesen sich auch hier diejenigen der Nagana und des El-Debab, ferner die der Surra als besonders geeignet zur Infektion, während diejenigen der Beschälseuche

(Dourine), welche wir schon bei den Kaninchen als schwächer erkannt hatten, sowie die Trypanosomen des Mal de Caderas nur negative Resultate ergaben.

Ueber die Meerschweinchenuntersuchung gibt vorstehende Tabelle eine Uebersicht.

III. Hund.

Bei der Fütterung des Hundes sind dieselben Vorsichtsmaßregeln beobachtet worden wie bei den Kaninchen. Das Fütterungsmaterial entstammte einer weißen Ratte, welche mit Chloroform getötet worden war, als ihr Blut enorme Mengen von *Dourine*-Trypanosomen aufwies. Ihre Organe wurden mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben und dureh Marle filtriert. Bei der Einführung dieser Emulsion in den Magen des Hundes vermittelst eines elastischen Katheters waren alle Vorkehrungen getroffen, um eine Läsion der Schleimhäute auszuschließen. Vorhergehende Behandlung mit Opium oder Natr. bicarb. hatte nicht stattgefunden.

Die Zählung der roten Blutkörperchen des Hundes im Laufe von 7 Tagen vor der Fütterung hatte im Mittel 6728000 pro cmm ergeben.

Die täglichen Blutuntersuchungen hatten nach der Fütterung 12 Tage lang nur negative Resultate ergeben und wurden dann eingestellt, da wir die Infektion für mißglückt ansahen, um so mehr als auch die Körpertemperatur während der ganzen Zeit normal geblieben war. Jedoch 24 Tage nach der Fütterung fiel bei dem Tiere Appetitmangel auf. Die sofort vorgenommene Untersuchung von Blut aus der Ohrvene ließ spärliche Trypanosomen erkennen und die Zahl der roten Blutkörperchen war auf 5640000 gesunken. Gegen Ende desselben Tages stieg die Körpertemperatur bereits auf 39,0° C.

Somit bestätigt unser Versuch die eingangs erwähnten Beobachtungen aus dem praktischen Leben von peroraler Infektion der Hunde mit Nagana oder Surra, und er berechtigt uns zu der Annahme, daß die Hunde beim Verzehren von trypanosomenhaltigem Material sich durch den Verdauungstraktus infizieren können, ohne daß durchaus Verletzungen an ihrer Schnauze oder der Mundschleimhaut vorhanden zu sein brauchen.

IV. Ratten.

Die Fütterungsversuche an Ratten bieten unter anderem noch ein besonderes Interesse als Beitrag zur Aufklärung der natürlichen Verbreitung von *Trypanosoma Lewisi* unter ihnen. Es herrscht die Ansicht, daß unter den „rats d'égout“ die Trypanosomen ausschließlich durch schmarotzende Insekten übertragen werden. Tatsächlich ist es ja auch Rabinowitsch und Kempner sowie Laveran und Mesnil gelungen, gesunde Ratten anzustecken, indem sie diese mit infizierten zusammensetzten, oder aber Ungeziefer von infizierten Exemplaren auf sie übertrugen. Falls jedoch dieser Ansteckungsweg der einzige sein sollte, so müßte man erwarten, daß zur kalten Jahreszeit, wo die Ratten enger beisammen leben, auch die Trypanosomose stärker unter ihnen verbreitet wäre. Dem ist aber nicht so; denn nach den Beobachtungen des einen (31) von uns fanden sich in St. Petersburg in der warmen Jahreszeit unter 46 gefangenen Ratten 58,7 Proz. infiziert, in der kalten dagegen von 104 nur 33,6 Proz. Es müssen somit noch andere Ausbreitungswege für das *Tryp. Lewisi* existieren. In diesem Sinne messen wir unseren nachstehenden Versuchen eine gewisse Bedeutung bei.

Vor jedem Versuche wurden die Schnauze und das Maul der Ratten inspiziert, um Verletzungen von Haut oder Schleimhäuten auszuschließen.

Darauf erhielten die Tiere trypanosomenhaltige parenchymatöse Organe zum Fraß vorgesetzt.

Alle Versuche gaben positive Resultate. Im ersten Versuche infizierte sich eine graue Ratte, im zweiten — 2 weiße Ratten mit *Tryp. Lewisi*. Bei den beiden letztgenannten traten die Parasiten nach 7 resp. 8 Tagen im Blute auf. Endlich erkrankte auf dieselbe Weise eine graue Ratte an Surra nach einer Inkubation von 4—5 Tagen.

Diese Experimente stehen im Einklang mit denen von Francis über das Eindringen des *Tryp. Lewisi* durch die Schleimhäute des Verdauungstraktes.

V. Weiße Mäuse.

Trotz der großen Anzahl (26) weißer Mäuse, deren wir uns zu den Versuchen bedient haben, ist es uns in keinem Falle gelungen, sie durch Fütterung mit irgend einer Trypanosomenart zu infizieren.

Um die Versuchsanordnung zu variieren, ließen wir mehrere Tiere zuvor hungern, einige sogar ziemlich lange (bis zu 24 Stunden). Zur Fütterung diente teils mit Trypanosomenblut getränktes Brot, teils ganze Organe.

Freilich ist zu bemerken, daß wir keine Gewißheit darüber haben, ob das vorgesetzte Material auch wirklich von den Mäusen aufgefressen worden ist; denn, wie uns auffiel, fanden sich selbst unter den hungrigen Mäusen nur sehr wenige, welche sich gern an das Futter machten. Außerdem wurde die Beobachtung noch dadurch erschwert, daß wir die Tiere in Glasgefäßen hielten, auf deren Boden auch das Futter gelegt wurde. Die Versuche sind daher in einer anderen Anordnung zu wiederholen, welche mehr Garantie für die Aufnahme des Infektionsmateriales in den Verdauungstrakt der Mäuse bietet.

Um ein Gesamtbild von den Resultaten unserer Versuche zu geben, stellen wir deren Hauptdaten in nachfolgender Tabelle zusammen.

Es ergibt sich somit, daß von 53 Tieren, welche wir dem Fütterungsversuche unterworfen haben, bei 15 die Ansteckung zu stande gekommen ist. Schließen wir die Mäuseversuche als nicht beweisend aus, so fallen die 15 positiven Resultate sogar auf nur 27 Versuche. Wenn wir andererseits von denjenigen Fällen absehen, in denen eine künstliche Vorbehandlung (mit Opium resp. Natr. bicarb.) stattgefunden hatte, so bleiben immer noch 11 Infektionen nach Verfütterung von Trypanosomen unter normalen Bedingungen.

Demnach dürfte, nach unserer Meinung, die Möglichkeit einer Infektion durch die Schleimhäute des Verdauungstraktes für erwiesen gelten. Freilich mag ihr in praxi nur eine beschränkte Bedeutung zukommen, denn in der Natur ist dieser Verbreitungsweg von Trypanosomosen für Pflanzenfresser und für Menschen höchst unwahrscheinlich, dagegen steht nichts der Annahme im Wege, daß sich fleischfressende Tiere, wie Hunde, Hyänen, Schakale, Ratten etc., sehr häufig beim Fressen trypanosomenhaltiger Tiere durch den Verdauungstraktus infizieren. Auf Grund einer Reihe von Versuchen, welche der eine von uns in Gemeinschaft mit N. Kohl (32) über die Lebensdauer von Trypanosomen in Kadavern ausgeführt hat, können wir uns zahlreiche Fälle vorstellen, in denen selbst feigere Carnivoren durch Verzehren infizierter Leichen der Trypanosomose anheimfallen. Wir wollen gern den Einwand gelten lassen, daß die fressenden Tiere Verletzungen der Mundschleimhaut oder der äußeren Haut haben können, durch welche die Trypanosomen ebenso

Tabelle III.

Trypanosomenarten	Tierarten	Fütterungsresultate positiv	Fütterungsresultate negativ
Tryp. Lewisi	Graue Ratten	1	0
	Weiße Ratten	2	0
	Summa	3	0
Nagana	Weiße Mäuse	0	3
	Meerschweinchen	2	1
	Kaninchen	2	0
	Summa	4	4
Surra	Weiße Mäuse	0	9
	Graue Ratten	1	0
	Meerschweinchen	2	2
	Summa	3	11
El-Debab	Weiße Mäuse	0	4
	Meerschweinchen	1	0
	Kaninchen	2	0
	Summa	3	4
Dourine	Weiße Mäuse	0	5
	Meerschweinchen	0	2
	Kaninchen	1	5
	Hund	1	0
	Summa	2	12
Mal de Caderas	Weiße Mäuse	0	5
	Meerschweinchen	0	2
	Summa	0	7
	Gesamtzahl	15	38
Nach Ausschluß der weißen Mäuse		15	12

gut in den Organismus eindringen mögen, wie durch Insektenstiche oder künstliche Einspritzung; immerhin aber glauben wir gezeigt zu haben, daß auch durch die intakte Schleimhaut des Verdauungstraktes eine Ansteckung mit Trypanosomen möglich ist.

Ausgehend von den Resultaten unserer Beobachtungen, erblicken wir nichts Unwahrscheinliches in der Annahme, das gelegentlich auch andere Blutparasiten (Piroplasmen, Plasmodien, Spirochäten) durch die Schleimhäute des Verdauungstraktes ihren Weg in den Organismus finden können.

Resumé.

1) Es ist eine Infektion mit Trypanosomen durch die Schleimhäute des Verdauungstraktus möglich.

2) Herabsetzung der Peristaltik begünstigt die Infektionsmöglichkeit.

3) Neutralisierung des Magensaftes hat offenbar keine besondere Bedeutung für das Zustandekommen der Infektion.

4) Vorhergehendes Hungern spielt keine große Rolle bei der Ansteckung.

5) Zur Infektion durch den Verdauungstraktus erwiesen sich in unseren Versuchen als am befähigsten *Tryp. Lewisi* und die Trypanosomen des El-Debab und in zweiter Reihe diejenigen der Nagana, der Surra und der Dourine; mit den Trypanosomen des Mal de Caderas haben wir nur negative Resultate erzielt.

6) Mit Ausnahme der weißen Mäuse sind alle von uns geprüften Arten von Laboratoriumstieren im stande, sich durch die Schleimhäute des Verdauungstraktes mit Trypanosomen zu infizieren.

7) Als die empfindlichsten für diesen Ansteckungsmodus erwiesen sich weiße Ratten, graue Ratten und Hund, darauf Kaninchen und endlich Meerschweinchen (weiße Mäuse kommen hierbei nicht in Betracht).

Literatur.

1) Laveran et Mesnil, Trypanosomes et Trypanosomiases. Paris 1904.
2) Voges, Das Mal de Caderas. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902. No. 3.)
3) Sivori et Lecler, Le Surra americain ou Mal de Caderas. Buenos Aires 1902.
4) Evans, G., Report on Surra. 1880.
5) Schat, Memoire publié en 1902, dans les Arch. de l'Industrie sucrière à Java; citiert nach Laveran et Mesnil.
6) Mussgrave and Clegg, Trypanosoma and Trypanosomiasis with special reference to Surra in the Philippine islands. (Biological Laborator. No. 5. Manila 1903.)
7) Dutton and Todd, 1st Report of the Trypanosomiasis expedition to Senegambia (1902). (Johnston and Thompson Yates Labor. Report. Vol. V. 1903.)
8) Theiler, A new Trypanosoma. (Journ. of comparative pathology and therapeutics. Vol. XVI. 1903.)
9) Bruce and Nabarro, Progress. Report on sleeping sickness in Uganda. London 1903.
10) Sergent, Ed. et Et., El Debab. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1905.)
11) Cazalbou, zitiert nach Laveran et Mesnil.
12) Rabinowitsch und Kempner, Die Trypanosomen in der Menschen- und Tierpathologie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903.)
13) Lingard, The Trypanosoma of Dourine and its life history. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. Heft 5.)
14) Laveran et Mesnil, Recherches morphologiques et expérimentales sur les Trypanosome des rats. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901.)
15) Rabinowitsch und Kempner, Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten, speziell der Rattentrypanosomen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. 1899.)
16) Schaudinn, zitiert nach Laveran et Mesnil.
17) Léger, Sur la morphologie du Trypanoplasma des vairons. (C. R. acad. sciences. T. CXXXVIII. 1903.)
18) Leydig, zitiert nach Laveran et Mesnil.
19) Keysselitz, Ueber Trypanophis Grobbeni. (Arch. f. Protistenk. Bd. III. 1904.)
20) Van Beneden et Hesse, Recherches sur les Bdellodes. (Mem. acad. sc. Belgique. T. XXXIV.)
21) Plehn, Mar., Trypanoplasma cyprina. (Arch. f. Protistenk. Bd. III. 1903.)
22) Bruce, Preliminary Report on the Tzetze fly disease or Nagana in Zululand. 1895.
23) Lingard, Report 1894.
24) Rogers, zitiert nach Laveran et Mesnil.
25) Steel, Report on his investigation on obscure and fatal disease among transport mules in British Burma. 1885; zitiert nach Laveran et Mesnil.
26) Penning, Veeartsenijk. Bladen v. Ned.-Indië. T. XII—XIII. 1899—1900; zitiert nach Laveran et Mesnil.
27) Francis, Bull. No. 11 Hyg. Labor. U. S. Publ. Health a. Mar. Hosp. Ser., Washington 1903; zitiert nach Laveran et Mesnil.
28) Lacomme, Journ. de Phys. et Pathol. gén. 1905. No. 1.
29) Rouget, Contribution à l'étude des Trypanosomes des mammifères. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. X. 1896.)
30) Buffard et Schneider, Trypanosomes de la Dourine. (Arch. de Parasitologie. T. III. 1900.)
31) Yakimoff, W. L., Ueber die Vorbereitung der Trypanosomen unter den grauen Ratten in St. Petersburg. (Westnik obschtestwennoi Hygieny. Bd. XII. 1906.) [Russisch.]
32) Yakimoff, W. L., et Kohl, Nina, De la vitalité des Trypanosomes dans les cadavres. (Arch. des sciences biologiques. 1906. No. 4—5.)

Notes sur les cestodes d'oiseaux de l'Oural. III.

Quelques observations sur *Diococestus aspera* Fuhrmann et sur les organes génitaux de *Schistotaenia macrorhyncha* Rud.

[Laboratoire de Zoologie de l'Université de Genève.]

Par W. Clerc, Dr. ès sc., Ekathérinbourg.

Avec 2 planches.

1. *Diococestus aspera* Fuhrmann[1]).

Fig. 1—2.

Cette espèce remarquable, si facile a déterminer, à été trouvée dans l'Oural quatre fois au nombre de huit exemplaires, toujours dans le *Podiceps cristatus*. Elle doit être considérée comme une espèce rare, car le nombre de grèbes soigneusement disséqués fut assez considérable (près d'une trentaine). Six exemplaires de cette espèce sont des femelles (?) et deux, des mâles; les deux sexes se trouvaient toujours dans les intestins de différents oiseaux, de sorte que nous avons ici affaire à des strobila vierges.

En ce qui concerne les mâles, ceux-ci possèdent tous les caractères particuliers indiqués par Fuhrmann, mais les femelles sont ici appelées femelles seulement parce qu'elles manquent d'organes génitaux mâles; il serait peut-être plus exact de les appeler „individus asexués", car il leur manque toute trace d'organes génitaux. Cette anomalie extraordinaire sera examinée plus bas.

L'identité de l'espèce récoltée dans l'Oural avec le *D. aspera* original ne saurait être contestée, car j'ai pu, grâce à l'amabilité de M. Fuhrmann, comparer mes coupes avec les préparations originales qui lui ont servi pour ses descriptions.

Le scolex n'était connu jusqu'ici que d'une façon très incomplète, parce que le matériel que M. Fuhrmann avait à sa disposition ne renfermait pas de scolex avec des crochets au rostellum. La supposition de Fuhrmann, qu'il existerait une trentaine de crochets, ne se confirme pas: leur nombre s'élève seulement à 14.

Ces crochets sont disposés en couronne simple et sont vraiment énormes, leur longueur atteignant 0,20—0,218 mm.; leur base mesure 0,12 mm. Les crochets sont également remarquables par leur épaisseur, telle que sur les coupes transversales on voit leur section ovale peu étirée. Je n'ai pas pu constater de différence notable entre les crochets des mâles et ceux des individus asexués, que je suppose être des femelles. Les ventouses sont très petites. Le rostellum, extrêmement puissant et volumineux, possède deux sacs musculaires, dont l'interne est surtout bien développé.

Les plus gros mâles mesuraient 22 cm., mais l'état de forte contraction, comme cela arrive à tous les gros cestodes fixés vivants par le sublimé froid, fait supposer que la longueur observée pourrait être bien plus considérable (d'après Fuhrmann 28 cm.). La largeur maximale observée s'élève à 10 mm.

Parmi les caractères anatomiques des mâles, nous pourrons constater

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXVIII. 1900. No. 12/13.

encore une fois le fait intéressant que les testicules avec les canaux efférents se trouvent développés seulement dans les proglottis tout-à-fait antérieurs et que la plus grande partie du strobila ne renferme que des poches de cirres. L'anomalie observée par Fuhrmann se retrouve également: assez souvent, du moins, dans les proglottis postérieurs, nous ne voyons qu'une seule poche de cirre dans chaque proglottis au lieu de deux.

Il a été observé une copulation accidentelle entre les proglottis mâles: nous trouvons dans trois proglottis du même strobila, débité en coupes, un pénis qui avait pénétré au milieu du proglottis et s'était arraché dans le parenchyme; ces pénis provenaient naturellement d'autres proglottis.

Les exemplaires asexués ne diffèrent en rien par leur extérieur des mâles normaux, sauf l'absence totale des pénis géants qui hérissent les bords du strobila chez ces derniers.

La musculature, le système excrétoire et le système nerveux se trouvent chez ces femelles vierges tout aussi bien développés que chez les mâles.

Ce fait étrange, observé d'abord sur un exemplaire débité en coupes sur toute sa longueur, m'a fait consacrer à son étude tous les strobila de ma collection; de chacune des femelles j'ai pris pour la mettre en coupes la partie tout-à-fait antérieure du strobila et la partie antérieure; en outre, pour les coupes également, je prenais 2—3 lambeaux au milieu du strobila. Ainsi l'absence d'organes génitaux est dûment constatée. Même les faibles indications sur les ébauches d'organes femelles qu'on voit parfois chez les mâles (Fuhrmann, p. 369) ne s'observent pas au même degré: ce que je puis constater, c'est tout au plus l'existence de légères traînées de cellules avec les noyaux un peu plus gros et mieux colorés que ceux des cellules parenchymateuses. Ce fait paraît d'autant plus étrange que, chez les femelles normales étudiées par Fuhrmann et soigneusement examinées par moi, les organes femelles sont très volumineux, surtout l'utérus, qui remplit complètement les proglottis mûrs.

Faut-il considérer ces strobila asexués comme des mâles anormaux? Cela est fort peu probable, parce qu'il est presque certain qu'il s'y trouverait une ébauche quelque peu visible de la poche de cirre, car ce caractère anatomique chez les mâles possède un développement exagéré. On pourrait supposer aussi que ce soient des femelles ayant déjà produit une quantité de proglottis mûrs déjà tombés, et que le scolex continuât de produire des proglottis atrophiés, mais si c'était possible, ou l'aurait observé chez d'autres espèces de cestodes. La question reste ouverte et il serait très désirable qu'on tâchât de se procurer un matériel plus abondant. Pour ma part, je ferai à la première occasion une chasse assidue aux *Podiceps*, heureusement assez fréquents sur les innombrables lacs de l'Oural Moyen.

2. *Schistotaenia macrorhyncha* Rud.

Fig. 3—7.

Un des *Podiceps nigricollis* que j'ai tués à 100 kilomètres au sud d'Ekathérinbourg, m'a fourni 14 strobila de *Sch. macrorhyncha*. Ayant fixé ces cestodes, comme tous les autres, à l'état vivant, je me trouve dans la possibilité de compléter la description de Cohn[1]) qui s'était

1) Zeitschr. f. wissensch. Zoologie. Bd. LXVII. 1900. No. 2.

occupé de cette espèce. Les organes génitaux ont été examinés par Cohn d'une manière très incomplète par suite du mauvais état de conservation du matériel dont il disposait. Je laisse de côté dans l'article présent la plus part des autres organes, tout en me réservant d'y revenir dans une monographie ultérieure.

Chez le *Schistotaenia macrorhyncha* les organes mâles n'atteignent leur développement complet qu'après les organes femelles.

Ce fait est facile à constater, car dans les proglottis où les réceptacles séminaux sont déjà remplis de sperme et où la fécondation des ovules s'opère dans les conduits génitaux femelles, les testicules se montrent dans un état encore fort éloigné de la maturité, et la vésicule séminale est encore vide.

La volumineuse poche de cirre a une structure particulière. Elle est composée de deux parties bien distinctes: d'une vésicule séminale et de la poche proprement dite. Cette dernière possède une musculature spéciale et, à l'état de contraction, prend la forme d'une poire. Le deuxième sac musculaire moins fort enveloppe cette poche et la vésicule. Un rétracteur s'unit insensiblement à la musculature transversale du proglottis d'un côté et de l'autre à l'enveloppe externe de la poche.

A l'intérieur de la poche nous trouvons un pénis puissant armé de crochets. Le vas deferens forme ici plusieurs lacets.

Entre la vésicule et la poche se trouve constamment une pochette, parfois très distincte. Elle fait corps avec la poche, car la musculature de celle-ci passe à celle-là. A son intérieur on voit 2—3 lacets du vas deferens.

La vésicule seminale est entourée d'une couche très épaisse de cellules, dont la nature glandulaire est évidente. Ces cellules possèdent un gros noyau et un contenu granuleux. La lumière de la vésicule encore vide est peu considérable, par contre quand le sperme vient s'y accumuler, elle prend une forme globulaire avec un diamètre à peu près égal au diamètre dorso-ventral du proglottis. Dans cet état de gonflement de la vésicule, les cellules glandulaires disparaissent presque complètement; elles se conservent le plus longtemps à l'extrémité de la vésicule.

Le sperme accumulé dans la vésicule y forme des paquets repliés sur eux-mêmes et fortement comprimés qui, lorsque le matériel est mal conservé, donneraient facilement l'illusion d'un organe parenchymateux. Le vas deferens se gonfle aussi considérablement dans la pochette, de sorte que ses parois, qui sont minces, deviennent peu distinctes.

Ainsi, la poche de cirre est munie d'une grande provision de sperme, et la copulation se fait entre les proglottis âgés et postérieurs et les proglottis jeunes: — ceux-ci jouent le rôle de femelles et ceux-là le rôle de mâles. Nous trouvons souvent la vésicule séminale bien gonflée encore dans des proglottis où les utérus sont remplis d'œufs en voie de segmentation, de sorte que même les proglottis d'où les testicules ont disparu remplissent les fonctions de mâles.

La copulation se fait comme suit. Le pénis pénètre dans le réceptacle en perçant les parois du corps et traverse le parenchyme. Il n'existe point de canal qui puisse servir de vagin et je n'ai pu trouver aucune trace du canal dorso-ventral indiqué par Cohn. L'acte de fécondation a été constaté sur un grand nombre de proglottis. Le plus souvent je trouve à l'intérieur du réceptacle non-seulement le pénis, mais une partie ou même presque toute la poche de cirre avec des lacets du vas deferens.

Dans mes préparations, le pénis ou la poche de cirre qui ont pénétré dans le réceptacle, se trouvent toujours arrachés du proglottis auquel ils appartenaient. Il est possible que cet arrachement se produise seulement lors de la fixation de l'animal par le sublimé, qui surprend les proglottis en copulation, car il se produit toujours une contraction violente[1]).

Une autre supposition me paraît être très plausible: l'arrachement de la poche pourraît être un acte normal, parce que la structure particulière de la poche, qui ne s'unit à la vésicule que par un mince rétrécissement, la prédispose à cet arrachement; d'autre part, la poche séparée servirait de bouchon au large trou pratiqué par le pénis volumineux et fortement armé. L'existence de la pochette qui sépare la poche de la vésicule, servirait aussi à faciliter la séparation de celle-ci.

La pénétration du pénis juste au milieu du proglottis où se trouve le réceptacle séminal, est facilitée par une rainure divisant le strobila en deux bandes longitudinales. Cette rainure est assez bien marquée sur les deux faces du strobila et permet à celui-ci de se replier facilement en long, ce qui facilite encore plus une copulation utile. La pénétration du pénis a été observée tantôt du côté dorsal, tantôt du côté ventral, plus souvent du côté ventral.

Les testicules sont nombreux et occupent toute la largeur du proglottis. D'après Cohn ils sont postérieurs; mes préparations, vu l'état de forte contraction, ne laissent pas voir ce caractère, mais par contre leur position dorsale est évidente, au moins dans les proglottis où les glandes femelles ont acquis un développement considérable, tandis que les testicules sont encore petits. Au moment où les testicules secrètent le sperme, l'utérus est déjà passablement rempli d'œufs et présente un grand nombre de lobes, ce qui fait que la position des testicules devient incertaine.

Le canal déférent est très court.

Les organes femelles, à mon avis, diffèrent très peu de ceux de la plupart des cestodes d'oiseaux: le seul caractère particulier, l'atrophie du vagin, à lui seul ne peut pas avoir une grande importance systématique.

L'ovaire est plus ou moins nettement double, divisé en lobes faiblement découpés. Il occupe presque toute la largeur du proglottis, sans pénétrer naturellement dans les appendices latéraux de celui-ci. Ces appendices sont totalement dépourvus d'organes génitaux. L'ovaire est ventral.

La glande vitellogène est assez volumineuse, mieux divisée en lobes que l'ovaire; ses lobes paraissent former des anastomoses entre eux.

Tous les conduits génitaux femelles, sauf le vagin, se trouvent bien développés; l'oviducte, le canal qui conduit le sperme du réceptacle à l'oviducte, le vitelloducte, tous se réunissent de la façon habituelle chez l'immense majorité des cestodes d'oiseaux. Il existe ici de même la partie musculaire du canal conduisant les œufs dans l'utérus.

Le réceptacle séminal possède un épithélium haut, d'après Cohn; il me semble que les cellules qui l'entourent ont plutôt le caractère de cellules glandulaires que de cellules épithéliales. Je les trouve seulement entourant le réceptacle au début de son développement.

---

1) Voir pour le mode de fixation: W. Clerc, Contribution à l'étude de la faune helminthologique de l'Oural. (Revue Suisse de zool. T. XI. p. 242.)

Le réceptacle en se rétrécissant donne naissance à un canal qui se dirige du côté ventral en forme de fer à cheval: c'est le spermoducte se réunissant à l'oviducte.

Le vagin, dirigé tantôt à droite, tantôt à gauche, est considérablement atrophié; au moins son orifice n'a été trouvé sur aucune de mes préparations, quoique son extrémité en cul-de-sac se trouve tout près de la cuticule. Cohn a trouvé la même chose.

Le réceptacle séminal et le vagin n'ont aucun rapport avec le système excrétoire.

Le vagin passe entre les vaisseaux excréteurs comme cela s'observe chez bien d'autres cestodes d'oiseaux, chez les *Anomotaenia* par exemple.

L'utérus est sacciforme et remplit tout le proglottis mûr. Les proglottis qui ne contiennent plus de glandes génitales renferment toujours la poche de cirre munie de l'énorme vésicule séminale: ainsi leur aspect est très caractéristique pour cette espèce.

L'utilité de ce développement tardif et considérable de l'organe mâle est évidente. La copulation fructueuse étant ici difficile à cause du manque de l'orifice femelle et à cause de l'impossibilité de l'autofécondation, le nombre considérable de proglottis prêts à remplir le rôle de mâles compense ce défaut.

Le système excréteur est chez cette espèce très développé, mais dans ses grandes lignes il ne diffère pas de celui des *Anomotaenia*, *Monopylidium*, *Hymenolopis*, etc. Cohn admet l'existence de 6 canaux longitudinaux, mais, malgré un examen très attentif et le très bon état de conservation du matériel, je n'ai pas pu retrouver la troisième paire de ces vaisseaux. Il existe un grand nombre de fines commissures entre les vaisseaux longitudinaux; une de ces commissures est la plus constante, — c'est celle qui réunit la paire la plus éloignée du milieu du proglottis; je crois cette commissure homologue aux commissures entre les vaisseaux excréteurs ventraux d'autres cestodes. Elle passe toujours sous le réceptacle séminal, du côté ventral. Les 4 vaisseaux, grâce à l'aplatissement considérable des proglottis, se trouvent disposés presque dans un seul plan horizontal; la paire la plus rapprochée du réceptacle serait, d'après moi, homologue à la paire de vaisseaux dorsaux d'autres cestodes et l'autre paire aux vaisseaux ventraux. Pour cette raison je puis dire que les conduits génitaux passent entre les vaisseaux excréteurs (fig. 7).

Dans chaque proglottis il existe un plexus de vaisseaux excréteurs placé près du bord du proglottis, et je me demande si Cohn n'a pas pris pour une troisième paire d'excréteurs une des commissures de ce plexus, qui, grâce à sa direction d'avant en arrière, se trouve parfois coupé en travers quand on débite le strobila en tranches transversales.

Je ne retrouve pas non plus de traces du canal dorso-ventral indiqué par Cohn d'après un matériel très macéré; il est probable qu'il s'agissait ici aussi d'une des nombreuses branches du système excrétoire.

Ainsi, si mes observations sont justes, l'anatomie du *Schistotaenia macrorhyncha* est moins particulière que ne pourrait le faire croire la description de Cohn; cette espèce ne se sépare de la plupart des cestodes d'oiseaux que par des caractères d'une importance secondaire. L'atrophie du vagin entraîne quelques autres modifications sans grande importance systématique. Toutefois, le grand nombre de particularités anatomiques et morphologiques nous obligera toujours à mettre cette

espèce curieuse à part de la plupart des autres cestodes d'oiseaux, mais sa parenté avec le *Sch. scolopendra* me semble insuffisamment établie. Il s'impose une révision fondamentale de toutes les espèces, où, à prime abord, paraissent exister soit un rapport étroit entre les vaisseaux excréteurs (*Tatria*), soit une structure énigmatique du réceptacle séminal. Je n'oserais en tenter une étude détaillée qu'en possédant un matériel très riche et surtout très frais qu'il est si difficile de récolter!

Explication des figures.

Fig. 1. *Diococestus aspera.* Coupe longitudinale, légèrement oblique, du scolex; *s.m* = sac musculaire externe; *v.e* = vaisseaux excréteurs; *im* = sac musculaire interne; *ven* = ventouse; *cr* = crochets; *cut* = cuticule.

Fig. 2. *Dioc. aspera.* Crochet du rostellum.

Fig. 3. *Schistotaenia macrorhyncha.* Coupe transversale. *p* = penis; *ret* = pochette: *v.s* = vésicule séminale; *c.e* = couche externe de muscles de la poche; *t* = testicules.

Fig. 4. *Sch. macrorhyncha.* Coupe transversale. *v.s* = vésicule séminale; *r* = rétracteur.

Fig. 5. *Sch. macrorhyncha.* Coupe transversale. *v.e* = vaisseaux excréteurs; *r.s* = réceptacle séminal; *ov* = ovaire; *p.c* = poche de cirre.

Fig. 6. *Sch. macrorhyncha.* Coupe transversale. *m.t* = muscles transversaux. *v.e* = vaisseaux excréteurs.

Fig. 7. *Sch. macrorhyncha.* Coupe transversale. *p.c* = poche de cirre avec la vésicule séminale; *v.e.d* = vaisseau excréteur dorsal; *v.ex.v* = vaisseau excréteur ventral; *v* = branches des vaisseaux excréteurs; *b.p* = plexus des branches des vaisseaux excréteurs.

Eine neue Strongylusart.

Von Dr. **Oth. Schnyder,** Tierarzt, Horgen, Zürich.

In seiner vergleichend-zoologischen Arbeit: Die Strongyliden in dem Labmagen der gezähmten Wiederkäuer, Inaug.-Dissert., Bern 1901, hat Dr. Wilh. Stödter in Hamburg folgende 7 selbständige Arten unterschieden:

1)	*Strongylus*	*contortus* Rudolphi	1803
2)	„	*Ostertagi* Stiles	1892
3)	„	*Curticei* Giles	1892
4)	„	*oncophorus* Railliet	1900
5)	„	*Harkeri* Stödter	1900
6)	„	*retortaeformis* Zeder	1800
7)	„	*filicollis* Rudolphi	1803
		nec Molin	1860

Nach Vergleichungen mit vorgenannten Strongylidenarten konnte hierseits anläßlich einer Arbeit[1]) über Magendarmstrongylosis des Rindes bei 7 von 17 untersuchten Rindern (in 41 Proz.) im Labmagen und Dünndarm eine weitere Art gefunden werden, die, wie mir Herr Dr. v. Linstow in Göttingen brieflich mitteilte, als species nova zu bezeichnen ist. Die sowohl von Dr. v. Linstow als auch dem Schreibenden vorgenommenen anatomischen Untersuchungen dieser Art lassen folgendes Bild entwerfen:

---

1) Beitrag zur Kenntnis der Magendarmstrongylosis des Rindes. (Inaug.-Dissert. Zürich 1906 u. Schweizer Arch. für Tierheilkunde. 1906. Heft 3 u. 4.)

Fig. 1.

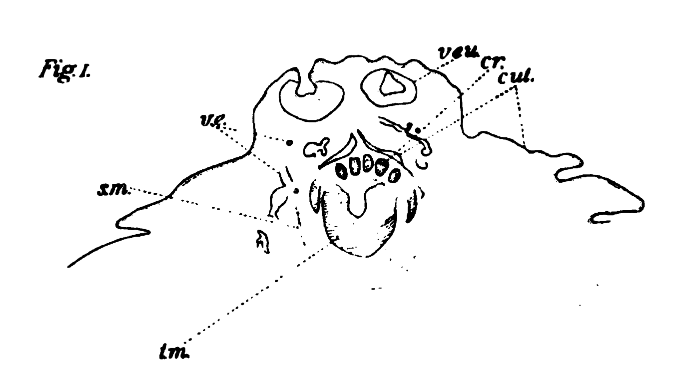


Fig. 2.

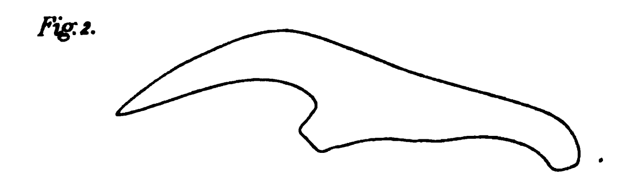


Fig. 3.

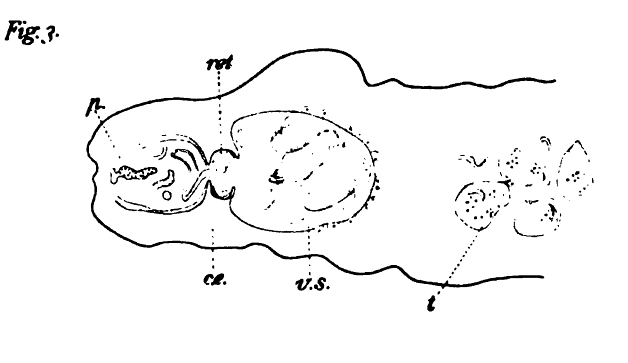


Fig. 4.

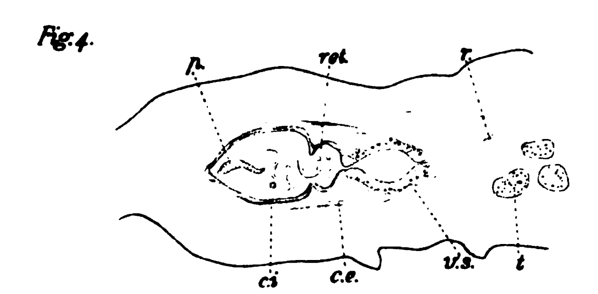


Fig. 5.

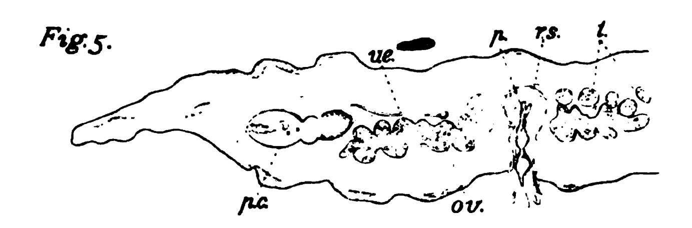


Fig. 6.

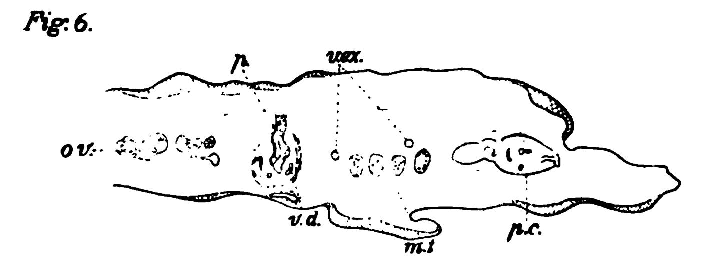
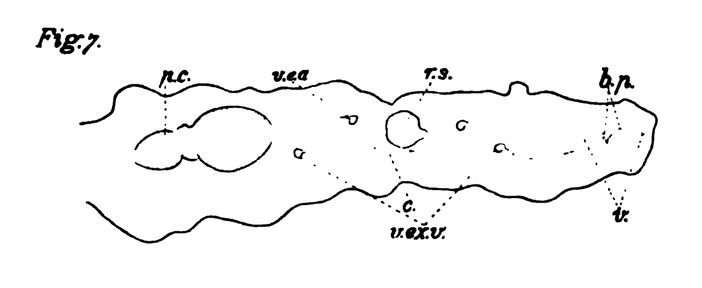


Fig. 7.



Der neue Strongylus gehört zu den kleinsten bekannten Arten, die im Rinde leben, und steht in Gestalt und Größe dem *Strongylus retortaeformis* Zeder am nächsten. Sein Körper ist sehr dünn und zart; das ♂ 5,3—6 mm lang, 0,098 mm breit; das ♀ 6,4—7 mm lang und 0,100 mm breit. Bei beiden ist das Kopfende vorn gerundet, ohne Lippen und Papillen (v. Linstow), die Kopfcuticula verdickt und tief quergeringelt in einer Länge von 0,01—0,117 mm, der Oesophagus so breit wie der Darm, beim ♂ $^1/_{19}$, beim ♀ $^1/_{18}$ der ganzen Länge einnehmend (v. Linstow). Die Spicula haben gelbliche Farbe und eine Länge von 0,136 bis 0,149 mm. Sie zeigen bis zu ihrer Mitte fast gleiche Dicke, hier sodann eine rundliche Auftreibung und darauf bedeutend dünneren, in mehreren Spitzen endigenden Auslauf. Die Kloakenmündung ist chitinisiert, vasen- oder becherförmig, Bursa, ca. 0,17 im Durchmesser, deutlich zweilappig, jeder Seitenlappen mit 5—6 fast gleichlangen Rippen. Eine End- oder Hinterrippe weist 2 parallele Rippchen auf, die an der Wurzelgabel je ein kolbenförmig endigendes Nebenrippchen nach außen absetzen. Die parallel verlaufenden Hinterrippchen teilen sich in ihrem Ende in 2 kleine stumpfe Aeste, von denen der äußere etwas länger ist (v. Linstow). Auf der Membran der Bursa stehen zierlich regelmäßig geordnet, dicht nebeneinander feine, glänzende Pünktchen.

Bei dem ♀ ist das Schwanzende stark zugespitzt und beträgt $^1/_{46}$ der ganzen Tierlänge (v. Linstow). Die Vagina ist meist vorgestülpt (evaginiert) und liegt weit nach hinten. Der durch sie gebildete vordere Körperabschnitt verhält sich zum hinteren wie 14:3 (v. Linstow). Die Eier liegen einreihig und meist der Länge oder wenig der Schräge nach in dem Eischlauche (wie bei *Styl. retortaeformis* Zeder) und messen 0,068 mm in der Länge und 0,054 mm in der Breite.

Dr. v. Linstow schlägt vor, die beschriebene Art *Strongylus punctatus* n. sp. zu nennen.

Bis zu welchem Schwächungsgrade des fixen Virus nach der Methode von Pasteur sind die Mäuse und Ratten noch empfindlich?[1]

Von **Claudio Fermi**, Sassari.

Bekanntlich gelangt man bei den antirabischen Impfungen nach der Pasteurschen Methode zur Verimpfung der Markemulsion vom 3. Tage. Haben wir nun aber die Gewißheit, daß die Einimpfung der Markemulsion vom 3. Tage nicht die paralytische Tollwut beim Menschen verursachen kann?

Können vorhergegangene Einimpfungen von schwächerer Markemulsion gegen das Mark vom 3. Tage immunisieren, falls dies in irgend einem Falle seine Virulenz behält?

Ich glaube, daß selbst angesichts der Kenntnisse, die wir in dieser Hinsicht besitzen, diese beiden Fragen immerhin noch erlaubt sind, und

1) Die erste vorläufige Mitteilung ist in der Riforma medica. 1905. No. 3 veröffentlicht.

daß man nicht ohne weiteres diese wichtige Frage als gelöst betrachten kann.

Pasteur schreibt indessen, daß das bei 23—25° getrocknete Mark nach 4—5 Tagen seine Virulenz verliert, Gamaleia hingegen, daß das getrocknete Mark seine Virulenz erst nach 5—6 Tagen verliert.

Ferner meint Pasteur, das Mark vom 6. Tage wirke tötend nach einer Inkubation von 15 Tagen, jenes vom 5.—4.—3. Tage nach einer Inkubation von 8 Tagen, und jenes von 2 und von 1 Tage hätte dieselbe Virulenz wie das frische Mark.

Wie man sieht, wäre also nach Pasteur nicht nur die Virulenz des Markes vom 5. Tage, sondern auch von noch schwächerem fast sicher[1]).

Nach Frisch wäre ferner das Mark vom 3.—4. Tage bisweilen virulent; das Mark vom 6. und vom 7. Tage hätte einmal tödlich gewirkt, nach einer Inkubation von 8 Tagen; das Mark vom 8. Tage hätte einmal durch Tollwut nach 11 Tagen, jenes vom 10. und 12. Tage einmal in 8 Tagen, jenes vom 15. Tage in 10 Tagen, jenes vom 16. Tage einmal nach 15 Tagen getötet. Gewöhnlich aber ist das Mark vom 15. und 20. Tage nicht mehr virulent.

Wie man also sieht, wäre, den genannten Verfassern nach, das Mark vom 3. Tage nichts weniger als schädlich.

Frisch will sogar nachgewiesen haben, daß die bloße Einimpfung nach der Pasteurschen Methode gesunde Tiere und Menschen töten kann. Nach seinen Versuchen wären 90 Proz. der so behandelten Kaninchen an Lyssa (fixes Virus) zu Grunde gegangen.

Obwohl die außergewöhnlichen Resultate von Frisch nicht bestätigt worden sind, ist doch der absolute Beweis, daß das Mark vom 3. oder vom 4. Tage gesunde Menschen durch die Tollwut nicht umbringen kann, noch nicht geliefert worden; ja einige Fälle von paralytischer Tollwut, die hier und da sich unter den Gebissenen und den nach der Pasteurschen Methode Geimpften gezeigt haben, tragen leider zu sehr zur Aufrechthaltung dieses Zweifels bei.

Diesen überraschenden Resultaten gegenüber erwähne ich, daß Ferran über 1000 Personen mit Emulsion von frischem, fixem Virus ohne irgend einen Zwischenfall geimpft hat, daß Wyssokowicz[2]) ohne Gefahr 70 Personen die Emulsion von frischem Virus in die Venen einimpfte, und daß Nitsch sich unter die Cutis des Bauches 5 mm Mark einimpfte, ohne irgendwelche Störung zu empfinden.

Während die Fälle von Hundswut bei Tierärzten infolge von Sezierung der an Straßenwut verendeten Tiere nicht selten sind, hat man nie in der so langen Zeit einen Wutfall durch Infektion mit frischem Virus wahrgenommen, obwohl die zufälligen Inokulationen unter dem Personal der zahlreichen Pasteurschen Institute sehr häufig sind.

Hingegen drängt sich, als Ursache neuer Zweifel, nicht nur der eine oder der andere Fall von Rabies paralytica, die bisweilen bei den nach der Pasteurschen Methode Geimpften auftreten, vor die Augen, sondern noch mehr der traurige Fall[3]), welcher Bareggi zugestoßen ist, der beim Impfen verschiedener Personen mit frischem fixen Virus nicht weniger als 5 Todesfälle zu verzeichnen hatte. Bei diesen 5 Individuen

1) Ausgeführt von Krasmitski. (Annales de l'Inst. Pasteur. 1902.)
2) Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 36.
3) Gazzetta medica Lombarda. 1889.

sollen jedoch neben der Paralyse der unteren Glieder auch Kopfschmerzen, Fieber und Erbrechen beobachtet worden sein.

Daß man auf die Wirkung der immunisierenden Markeinspritzungen, die jener vom 3. Tage vorausgehen, weder absolut rechnen kann noch darf, beweisen zahlreiche Versuche.

Auch ich habe zur Genüge nachweisen können, daß es äußerst schwer ist, Tiere zu immunisieren, die, sei dies auch nur auf subkutanem Wege, durch fixes Virus infiziert sind.

Jedenfalls habe ich es für gut erachtet, das Studium dieser Frage wieder aufzunehmen.

Für diesmal begnüge ich mich, die erhaltenen Ergebnisse anzuführen.

Aus den zahlreichen, an 71 Muriden (42 weißen Ratten, 9 schwarzen Ratten und 20 weißen Mäusen) vorgenommenen Versuchen ergibt sich, daß das fixe Virus aus dem Pasteurschen Institute zu Sassari vom 3. Tage selbst den empfindlichsten Tieren (wie dies die Muriden sind) subcute eingespritzt, sich stets dem auf subkutanem Wege eingeimpftem fixen Virus gegenüber als jeglicher Virulenz entbehrend zeigte.

Sämtliche Tiere blieben am Leben.

Ueber die Verlängerung der Inkubationsdauer des fixen und des Strassenvirus unter verschiedenen Bedingungen.

Von **Claudio Fermi**, Sassari.

Das Studium der Verlängerung der Inkubationsperiode der experimentellen Wut kann nicht nur als eine Tatsache für sich selbst interessieren, sondern kann auch dazu beitragen, die so oft diskutierte Frage zu entscheiden, ob nämlich diese Tatsache von einer Abschwächung des Virus oder von einer numerischen Verminderung desselben abhängt.

Die Mehrzahl der Autoren (Pasteur, Högyes u. a.) erklären die Verlängerung der Inkubationsperiode der experimentellen Tollwut durch Annahme einer numerischen Verminderung des Virus.

Bevor ich zur Diskussion übergehe, führe ich die Resultate meiner Versuche an, die in dieser Beziehung etwas Licht schaffen können.

Die Verlängerung der Inkubationsperiode wurde erzielt:

a) Durch direkte Verdünnung des Virus,

b) durch Filtration oder indirekte Verdünnung,

c) durch Behandlung mit chemischen Substanzen,

d) durch Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Versuchstiere (teilweise Immunisierung).

a) Verlängerung der Inkubationsperiode durch die Verdünnung des Wutvirus.

1) Die Verdünnung des fixen Virus von 1 : 10000 bis 1 : 60000 hatte eine Verspätung in der Inkubationsdauer zur Folge, die zwischen 3 bis 22 Tagen schwankte.

2) Die Verlängerung der Inkubationsperiode ging bis zu einem gewissen Punkte im gleichen Schritte mit dem Grade der Verdünnung, insofern als die größte Verspätung sich in der Verdünnung von 1:50000 mit einer Media von 15 Tagen zeigte.

Es ist zu bemerken, daß man jedoch bei der Verdünnung von 1:10000 in einem Falle eine Verspätung von 22 Tagen hatte.

3) Bei der Verdünnung von 1:50000 war die Inkubationsperiode nicht nur länger, sondern auch konstanter, insofern als man in den verschiedenen Fällen Verspätungen von 20—15—10 Tagen hatte, während man bei der Verdünnung von 1 : 10000 z. B., größere Sprünge hat, wie 3—6—22 Tage.

b) Verlängerung der Inkubationsperiode durch die Filtration des Wutvirus.

1) Das mit einem Filter von einer Schicht filtrierte fixe Virus gab bei 10:19 Tieren eine Verspätung von 2—8 Tagen (im Durchschnitt von ungefähr 3 Tagen), 9:19 Tiere starben ohne Verspätung.

2) Das fixe Virus, das mit einem 2-schichtigen Filter filtriert wurde, gab bei 1:8 Tieren eine Verspätung von 5—17 Tagen (im Durchschnitt ungefähr 6 Tage), 4:9 Tiere starben ohne Verspätung.

3) Das fixe Virus, das mit einem 3-schichtigen Filter filtriert wurde, gab bei 4:9 Tieren eine Verspätung von 6—12 Tagen (im Durchschnitt 8 Tage), 5:8 Tiere starben ohne Verspätung.

4) Das fixe Virus, das mit einem Filter von 4 Schichten filtriert und mit dem nur an einem Tiere experimentiert wurde, gab eine Verspätung von 6 Tagen.

c) Verlängerung der Inkubationsperiode durch Behandlung des Wutvirus durch chemische Stoffe.

1) Folgende Substanzen verursachen eine längere Dauer der Inkubationsperiode: Larycith, Karbolsäure, Chininum bisulfatum; sie verursachten eine Verspätung von 12—12 und 9 Tagen, während alle anderen Substanzen nur eine Verspätung von 2—5 Tagen verursachten.

2) Folgende Substanzen verursachten keine Verspätung: Natrium fluorur., Ammoniak, Jodkali, Jodalbacid, Argentum nitricum, Kollargol, Argonin, Tachyol, Ichthargan, Larycith, Ermophenyl, Methylenblau.

d) Verlängerung der Inkubationsperiode des Wutvirus durch Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Versuchstiere.

Aus den vielen angestellten Versuchen geht hervor, daß beim Immunisieren der Tiere es ungefähr bei 70 derselben gelang, die Inkubationsperiode von 2—14 Tagen (im Durchschnitt ungefähr um 7 Tage) zu verzögern.

Daß die Verlängerung oder die Verminderung der Inkubationsperiode außer von der injizierten Menge des Virus, d. h. von einer numerischen Veränderung desselben, auch von einer Veränderung der Virulenz abhängen kann, ergibt sich aus den zahlreichen, schon in meiner Note über die Virulenz des fixen Virus aus den verschiedenen Pasteurschen Instituten gesammelten Tatsachen.

In dieser Hinsicht erwähne ich:

1) Die stärkere Virulenz des Virus der Wölfe gegenüber dem anderer Tiere;

2) die von den verschiedenen Autoren und von mir im Straßenvirus und im fixen Virus (dies letztere nicht nur sub cute, sondern auch sub dura inokuliert) wahrgenommenen verschiedenen Grade der Virulenz;

3) die Tatsache der Umwandlung des Straßenvirus selbst in ein bedeutend virulenteres Virus, als dies das fixe Virus ist.

Andererseits ist es nicht unwahrscheinlich, daß es einige chemische Agentien gibt, die neben einer numerischen Verminderung auch eine wirkliche und wahre Abschwächung des Virus verursachen können.

Wenn nun die durch chemische Stoffe erlangte Verlängerung der Inkubationsperiode nur von einer numerischen Verminderung des Virus abhinge, so müßte die Injektion einer größeren Menge desselben Virus in regelmäßiger Zeit töten.

In Bezug auf diese Frage werde ich später einige Untersuchungen anstellen.

Ueber den Mechanismus der Radiumwirkung auf das Wutvirus.

[5. vorläufige Mitteilung.]

Von Prof. **Guido Tizzoni** und Dr. **Alessandro Bongiovanni.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Berlin.

In unseren vier früheren Mitteilungen [1]) haben wir gezeigt, daß das Radium eine energische zersetzende Wirkung auf das Wutvirus in vitro und im Tierkörper ausübt, und zwar auch, wenn die Krankheit sich schon entwickelt hat. Wir haben uns damals darauf beschränkt, die zahlreichen beobachteten Tatsachen nur einfach wiederzugeben, ohne uns auf längere Betrachtungen einzulassen.

Bei der Fortführung unserer Untersuchungen haben wir jetzt neue Beobachtungen gemacht, die nicht nur die vorhergehenden voll und ganz bestätigen, sondern es uns auch gestatten, ein erstes Wort über den Mechanismus zu sprechen, der der Wirkung des Radiums auf das Virus zu Grunde liegt. Und gerade diese Beobachtungen wollen wir bei der vorliegenden Arbeit als Ausgangspunkte nehmen.

Sie betreffen die drei Hauptpunkte, die wir schon in den vorhergehenden Mitteilungen angegeben haben, nämlich die Wirkung des Radiums auf das Wutvirus in vitro, seine Wirkung im Tierkörper und die Bestimmung der induzierten Radioaktivität im Gehirne.

Hinsichtlich der Radiumwirkung in vitro haben wir weiter noch folgendes beobachten können:

---

1) Die Wirkung der Radiumstrahlen auf das Wutvirus in vitro und im Tierkörper. (1. vorl. Mitt. der Kgl. Akad. d. Wissensch. zu Bologna in der Sitzung vom 17. April 1905 vorgelegt.)

Die Behandlung der Wut mit Radiumstrahlen. (2. vorl. Mitt. der Kgl. Akad. d. Wissensch. zu Bologna in der Sitzung vom 28. Mai 1905 vorgelegt.)

Weiteres über die Behandlung der Wut mit Radiumstrahlen und über ihren Wirkungsmechanismus. [3. vorl. Mitteil.] (Berichte der Kgl. Lincei's Akad. Vol. XIV. Serie 5. Fasc. 6.)

Die Heilwirkung der Radiumstrahlen bei der durch Straßenvirus verursachten Wut. (4. vorl. Mitt. der Kgl. Akad. d. Wissensch. zu Bologna in der Sitzung vom 26. November 1905 vorgelegt.)

1) Die Expositionsdauer, die erforderlich ist, um das Virus für die Tiere unschädlich zu machen, unterliegt beträchtlichen Schwankungen, je nach der Empfindlichkeit der Injektionsstelle. So hat man bei demselben Radiumpräparate von 2 cg zu 100000 R.E.[1]) folgendes konstatieren können: Während nämlich eine Expositionszeit von nur zwei Stunden ausreicht, um das Wutgift unschädlich zu machen, wenn dasselbe in die vordere Augenkammer verimpft worden ist, wird erst in 6 Stunden oder auch in einer dreimal längeren Zeit derselbe Effekt erreicht, wenn die Inokulation des Virus subdural vorgenommen worden ist.

Dies bedeutet, daß sich die Empfindlichkeit des Auges und des Gehirnes für das Wutgift zueinander wie 1:3 verhalten.

2) Es fehlt in vitro jede Wirkung auf das Wutvirus, wenn man die Emanationen vollkommen ausschaltet dadurch, daß man den Radiumapparat in eine Bleidose fest einschließt, an welcher entsprechend der strahlenden Fläche mittels Mastix ein Deckglas angebracht ist. Dasselbe ist auch der Fall, wenn man die Expositionsdauer von 6 auf 18 Stunden verlängert und den aus dem Nervensystem hergestellten Brei filtrieren läßt, um die Hindernisse auszuschalten, auf die wir im folgenden zurückkommen werden.

So wurde es bewiesen, daß *die zerlegende Wirkung, die das Radium auf das Wutvirus ausübt, nur den Emanationen und nicht den Strahlungen zuzuschreiben ist.* Dieser Schluß wird auch indirekt durch die beiden folgenden Tatsachen bestätigt.

3) Die Wirkung, welche das Radium in vitro auf das Wutvirus ausübt, dringt, wie die der Emanationen im allgemeinen, nur wenig in die Tiefe. In der Tat, setzt man an Stelle des gewöhnlich zu subduralen Injektionen verwandten, aus dem Zentralnervensystem hergestellten Breies ein ganzes Stück eines wutkranken Gehirnes, das man in Glycerin oder Bouillon getaucht hat, 6 Stunden lang dem Radium aus, zerreibt es nach dieser Exposition zu Brei und injiziert es Kaninchen subdural, so sterben diese in derselben Zeit wie die Kontrolltiere an Wut. Dasselbe Resultat erhält man, wenn man das exponierte Stück 4—5 Tage lang sich selbst überläßt, es später zu Brei zerreibt und in der gewöhnlichen Weise subdural injiziert.

Hieraus sieht man, daß *die Wirkung des Radiums in vitro, die auf die Emanation zurückzuführen ist, nur sehr oberflächlich ist und ganz und gar nicht die ganze Masse des exponierten Gehirnes durchdringt*; außerdem geht hieraus hervor, daß sowohl das Glycerin wie die Bouillon nichts enthalten, was das Gehirn selbst so beeinflussen könnte, daß es seine Virulenz aufhebt.

4) Hat man den Brei des Zentralnervensystems dem Radium ausgesetzt, so erweist er sich in gleicher Weise unschädlich, mag man ihn nun unmittelbar danach injizieren oder ihn erst 4—11 Tage lang sich selbst überlassen. Dies beweist, daß das Wutvirus nach innigem Kontakt mit den Emanationen von diesen für immer zerstört ist und seine ursprüngliche Virulenz nicht mehr wiedererlangen kann, auch dann nicht, wenn die Zeit verstrichen ist, in der die eventuell in dem Gehirnbrei enthaltenen Emanationen zum größten Teile verschwunden sind.

Dasselbe Virus, das nicht dem Radium ausgesetzt, sondern während derselben Zeit und unter denselben Bedingungen wie im obigen Falle, sich selbst überlassen worden war, tötete das Kontrolltier in $6^1/_2$ Tagen.

---

1) Der Wert des Radiums ist immer in cg angegeben.

Hieraus geht ferner hervor, daß bei den Operationen nicht nur unter allen Umständen der freie Kontakt zwischen den Emanationen und dem Nervenbrei vermieden werden, sondern daß der Brei auch selbst sehr fein zerrieben sein muß. Am besten ist es, wenn man ihn filtriert; auf diese Weise werden nämlich alle etwaigen Hirnstückchen beseitigt, durch welche leicht die Infektion auf das Tier übertragen werden kann, da die Emanationen sie nicht ganz und gar durchdringen.

Was die Wirkung des Radiums im Tiere anbetrifft — Dinge, die schon in den früheren Mitteilungen auseinandergesetzt worden sind — so müssen wir jetzt nur noch folgendes hinzufügen.

1) Die Wirkung der verschiedenen Radiumpräparate auf das Wutvirus bei gleichzeitiger Anwendung steht nicht in direktem Verhältnisse zu ihrer Radioaktivität. So sind bei Anwendung zweier verschieden starker Proben, die sich wie 1:25 verhalten, die Wirkungen der aktiveren Probe zwar ein wenig rascher als die der schwächeren, indessen ist diese zeitliche Differenz unverhältnismäßig klein gegenüber der Verschiedenheit ihrer physikalischen Eigenschaften.

Zur Illustrierung diene folgendes Beispiel: Bei Verwendung von zwei Präparaten aus einer und derselben Quelle[1]), von denen das eine von 2 cg zu 100000 R.E., das andere von 1 dcg zu 500000 R.E. stark war, fand man, daß die Wirksamkeit des zweiten Präparates anstatt 25mal, nur um einen kleinen Bruchteil größer als die des ersten war. Denn nach einer 8-stündigen Applikation erzielte man mit beiden Radiumpräparaten vollkommene Erfolge; nur nach einer 7-stündigen Applikation starb das mit der schwächeren Probe behandelte Kaninchen nach 90 Tagen, während das mit dem stärkeren Präparat behandelte am Leben blieb.

Der Grund hierfür ist offenbar darin zu suchen, daß die Zeit, in der die Radiumstrahlen das Nervensystem durchdringen (daher rührt die günstige Radiumwirkung) für Radiumpräparate von beliebiger Stärke (wenigstens innerhalb gewisser Grenzen) gleich ist, oder daß das Absorptions- und Fixationsvermögen des Nervensystems für die Strahlen selbst nicht unbegrenzt ist.

2) Die Radioaktivität des Gehirnes, die man nach der Radiumapplikation auf das Auge mittels photographischer Methode nachweist, ist auch bei den stärkeren Präparaten größer als bei den schwächeren, steht aber in keinem Verhältnisse zu ihrer Stärke.

3) Schließlich wird auch durch neue Versuche wieder bestätigt, daß das Radium auf Tiere auch eine Wirkung ausübt, selbst wenn es in einem in der Flamme zugeschmolzenen Röhrchen eingeschlossen ist, wodurch also die Emanationen vollkommen ausgeschaltet werden.

Die Wirkung des Radiums auf das Tier ist also unzweifelhaft nur durch die Strahlungen bedingt, von denen, wie aus unseren früheren Arbeiten hervorgeht, wieder nur die β-Strahlen aktiv beteiligt sind.

Bezüglich der induzierten Radioaktivität konnten wir schließlich folgendes noch weiter feststellen.

1) Der Zustand der Radioaktivität des Gehirnes infolge der Radiumapplikation auf das Auge tritt ausschließlich am lebenden Tier ein, fehlt dagegen vollkommen am Kadaver, und zwar sowohl wenn das Radium auf das Auge des toten Kaninchens appliziert wird, als auch wenn das

---

1) Fabrik von Radiumsalzen etc. Armet de Lisle in Nogent sur Marne.

Gehirn oder der in gewöhnlicher Bouillon verdünnte Brei dieselbe oder auch längere Zeit hindurch direkt dem Radium ausgesetzt wird.

Mit anderen Worten: Die Erscheinung der Radioaktivität des Gehirnes infolge der Radiumapplikation auf das Auge ist eine streng vitale Erscheinung, d. h. sie ist nur an die lebende und nicht an die tote Materie gebunden.

2) Die induzierte Radioaktivität des Gehirnes ist ausschließlich auf die Emanationen und nicht auf die Strahlungen zurückzuführen, weil sie immer fehlt, wenn man bei der Applikation auf das Auge Radium verwendet, das in einer zugeschmolzenen Röhre eingeschlossen ist; die Dauer der Applikation spielt hierbei keine Rolle (20—24 Stunden).

3) Die Radioaktivität des Gehirnes wird in direkter Weise, und nicht, wie man auch denken könnte, durch Vermittelung des Blutes herbeigeführt.

Denn auch in denjenigen Fällen, in denen man das stärkere Präparat (1 dcg zu 500000 R.E.) anwandte und das Gehirn dementsprechend einen höheren Grad von Radioaktivität zeigte, gab das Blut desselben Tieres bei der photographischen Untersuchung konstant ein negatives Resultat. Die Prüfung wurde in der Weise vorgenommen, daß man das Blut direkt aus der Carotis entnahm, in ein Aluminiumröhrchen oder ein gläsernes Gefäß tat und darüber die photographische Platte legte.

4) Dasselbe Resultat haben wir bei der Leber nach der Radiumapplikation auf das Auge gehabt. Die bei demselben Tiere angestellte vergleichende Untersuchung fiel hinsichtlich der Leber und des Blutes vollkommen negativ aus, während sie ganz klar und deutlich die Radioaktivität des Gehirnes erkennen ließ.

Nach der Applikation des Radiums auf das Auge ist also die induzierte Radioaktivität nur am Gehirne nachweisbar, und zwar wird sie diesem auf direktem Wege erteilt.

5) Die Applikation des Radiums auf den Schädel (Stirn-Scheitelregion) führt auch wie die auf das Auge dieselbe Radioaktivität des Gehirns, jedoch mit einem gewissen Zeitverzug herbei; und zwar muß, um ein photographisches Bild von annähernd gleicher Intensität zu erhalten, im ersten Falle die Dauer der Applikation um $^1/_3$ länger als im zweiten sein (12 anstatt 8 Stunden).

Während ferner im Falle der Applikation auf das Auge das subdural infizierte Tier am Leben bleibt, geht es dagegen gleichzeitig mit dem Kontrolltiere an Wut zu Grunde, wenn derselbe Apparat auf den Schädel appliziert wird, und zwar auch, wenn man die Dauer seiner Applikation verdoppelt.

Das bedeutet, daß bei den Applikationen auf den Schädel die Emanationen, von denen die induzierte Radioaktivität abhängt, einen Weg zum Gehirne finden, während die Strahlungen, durch welche die kurativen Wirkungen des Radiums bedingt sind, von dem Knochen zurückgehalten werden oder jedenfalls in ihrer Schnelligkeit eine beträchtliche Einbuße erleiden.

6) Bei den Applikationen auf den Schädel gelangen die Emanationen tatsächlich zum Gehirne durch Vermittelung des Auges und erzeugen dort die induzierte Radioaktivität.

In der Tat fehlt bei denjenigen Tieren, bei denen das Auge entfernt worden ist, jegliche Radioaktivität des Gehirnes, auch wenn man

dasselbe Radiumpräparat direkt auf die leere Augenhöhle, und zwar um $^1/_3$ länger als gewöhnlich (12 St.) appliziert.

7) Die Applikationen des Radiums auf den Rücken in der Gegend des Rückgrates erzeugen im Gehirne nicht die geringste Radioaktivität, haben aber eine deutliche kurative Wirkung, allerdings in geringerem Grade als die Applikationen desselben Präparates auf das Auge.

8) Ersetzt man bei den Applikationen auf das Auge den gewöhnlichen Glimmerschirm durch einen Aluminiumschirm, so wird dadurch, auch wenn letzterer sehr dünn ist (0,023 mm) die Radioaktivität des Gehirnes vollkommen verhindert und gleichzeitig auch die kurative Wirksamkeit des Radiums vermindert, so daß es die Tiere nicht mehr von der Wut rettet, sondern ihren Tod nur verzögert.

Eine sichere Erklärung für diese Tatsache können wir heute noch nicht geben.

Der Wirkungsmechanismus des Radiums gegenüber dem Wutgifte ist also in vitro und im Tiere verschieden. Im Tiere ist die kurative Wirkung des Radiums eine streng vitale, durch die Strahlungen bedingte Erscheinung; in vitro dagegen wird die Zerlegung des Virus durch die Emanationen bewirkt, welche direkt mittels ihrer chemischen Eigenschaften das in dem toten Materiale enthaltene Virus angreifen; das Material muß aber fein zerteilt sein.

Die induzierte Radioaktivität des Gehirnes ist ebenfalls eine vitale Erscheinung, wird aber zum Unterschiede von der kurativen Wirkung des Radiums durch die Emanationen und nicht durch die Strahlungen bedingt.

So ist die induzierte Radioaktivität nur eine einfache Begleit- und keine wesentliche Erscheinung bei der kurativen Wirkung des Radiums.

Die Strahlungen gelangen zum Zentralnervensystem sowohl durch das Auge, als auch von allen Oeffnungen aus, durch welche große Nervenstämme austreten (Rückgrat); sie werden dagegen durch die Schädelknochen zurückgehalten oder wenigstens beträchtlich verlangsamt.

Die Emanationen dagegen gelangen zum Gehirne nur auf dem Wege durch das Auge, welches daher in Wahrheit das Organ ist, welches die Emanationen selbst sammelt und dem Zentralnervensystem übermittelt.

Diese Differenz zwischen dem Wirkungsmechanismus des Radiums in vitro und im Tiere kann einen wenig günstigen Eindruck machen, namentlich gegenüber unseren Erfahrungen mit den Heilseren; bei diesen vollzieht sich nämlich die Neutralisation eines Toxins in ganz gleicher Weise beim direkten Kontakt wie bei der Injektion in das Tier; in vitro stellt die Wirkung eines Serums eben nur den größten Exponenten seiner kurativen Wirksamkeit dar.

Wir dürfen uns darüber jetzt nicht wundern, denn wir haben im Radium ein Material vor uns, das sich von einem spezifischen Serum schon an und für sich und dann auch noch durch seine verschiedenen Energieformen ganz und gar unterscheidet.

So haben wir im Radium chemische Produkte (Emanationen), welche in vitro direkt auf das Wutvirus wirken, und auch physikalische Energie (Strahlungen), deren Wirkung als eine streng vitale Erscheinung nur mit Hilfe des tierischen Organismus zu stande kommt.

Diese Tatsachen zeigen uns, wie vorsichtig man in Zukunft verfahren muß, wenn man auf die Wirksamkeit des Radiums im Tierkörper einfach aus seiner Wirkung in vitro einen Schluß ziehen will, denn man

würde auf diese Weise z. B. in den Fällen, wo die Infektion an tieferen Stellen lokalisiert ist, vielleicht dem Radium jegliche Wirksamkeit absprechen, die man ohne Mühe festgestellt haben würde, wenn man nicht gleich bei den ersten außerhalb des Körpers erhaltenen Mißerfolgen seine Versuche eingestellt hätte.

Ueber Angriffsstoffe (Aggressine).

[Aus dem hygienischen Institut in Bonn.]

I. Mitteilung.

Von Dr. **Pane** und Dr. **Lotti**.

Die beiden Eigenschaften, durch die die Mikroorganismen in den Stand gesetzt werden, Krankheit zu verursachen, sind die Fähigkeit, Gifte zu bilden und im lebenden Körper der Tiere zu wachsen. Die Gifte der Bakterien sind seit langer Zeit schon, und mit mehr oder weniger Erfolg studiert worden; die Fähigkeit, im Tierkörper zu wachsen, die sogenannte Virulenz, erschien den meisten Forschern als eine geheimnisvolle Tatsache, die sie hinnahmen, ohne über ihren Ursprung weiter zu grübeln. Hin und wieder wurde zwar der Versuch gemacht, die größere oder geringere Virulenz in Zusammenhang zu bringen mit dem gradweise verschiedenen Vermögen, in den Nährböden Säure zu bilden oder sie zu reduzieren, oder mit einer ungleichen Widerstandsfähigkeit gegenüber antiseptischen Stoffen. Die Versuche ließen sich aber nicht durchführen[1]) und waren von vornherein aussichtslos, da ja damit niemals die spezifische Virulenz der Erreger erklärt werden konnte. Eine besser befriedigende Theorie der Virulenz und damit auch der Infektion und Immunität hat Kruse vor 14 Jahren aufgestellt[2]). Sein Gedankengang war in aller Kürze etwa folgender: Der Tierkörper genießt im allgemeinen gegenüber den Mikroorganismen, die auf irgend eine Weise in seine Gewebe hineingelangen, einer Immunität, d. h. er verhindert sie am Auswachsen. Da die tierischen Säfte und Zellen alle nötigen Nährstoffe für das Bakterienwachstum enthalten, kann diese Immunität nur darauf beruhen, daß daneben andere Stoffe im lebenden Körper vorhanden sind oder im Augenblick des Angriffs gebildet werden, die bakterienfeindlich wirken. Auf diese Stoffe mag der von Buchner ursprünglich nur für gewisse antiseptische Bestandteile des Blutserums gegebene Ausdruck der Alexine oder Abwehrstoffe angewandt werden. Die Alexine sind chemisch völlig unbekannte Körper, aber in gewissem Sinne spezifisch, d. h. für jede Tierart verschieden und in ihrer Wirkung auf die einzelnen Bakterien nicht mit derjenigen der bekannten chemischen Antiseptica parallel gehend.

Einzelne Mikroorganismenarten, eben die sogenannten virulenten, sind nun im stande, trotz der Alexine im Tierkörper zu wachsen, sie erreichen das dadurch, daß sie ihrerseits spezifische Stoffe, die Lysine

---

1) Vergl. Kruse in Flügges Mikroorganismen. 3. Aufl. Bd. I. p. 408.
2) Bemerkungen über Infektion, Immunität und Heilung. (Zieglers Beiträge. Bd. XII. 1893. und a. a. O.)

oder Aggressine[1]), bilden, welche die Alexine unschädlich machen. Die Art, wie sie das fertig bringen, „ob sie auf die Alexine wie Fermente wirken (katalytisch), oder ob sie die Wirkung der Alexine dadurch, daß sie sich direkt mit ihnen zu unschädlichen Stoffen verbinden“ (sie „paralysieren oder neutralisieren“), hat Kruse seinerzeit unentschieden gelassen. Die Berechtigung dieser Aggressintheorie beruht zunächst darauf, daß sie uns statt des unklaren Begriffes der Fähigkeit eine faßbare Vorstellung an die Hand gibt. Die Analogie zwischen den Enzymen und Aggressinen liegt ferner sehr nahe. Wenn man früher gegen die Allgemeingültigkeit der Enzymlehre eingewandt hat, daß sich die Gärungen dadurch nicht erklären ließen, weil es nicht gelungen sei, Gärungsenzyme zu isolieren, so hat sich dieser Einwand durch die Entdeckung der Zymase schon teilweise unmittelbar als hinfällig erwiesen, aber auch in den Fällen von Gärung, wo die Darstellung nicht gelungen, zweifelt heutzutage wohl kaum noch jemand, daß enzymähnliche Atomgruppen das Gärungsvermögen bedingen, und Niemand begnügt sich wie früher damit, die Gärungen als eine besondere Eigentümlichkeit des lebenden Protoplasmas anzusehen. Wir werden, wenn wir den Versuch machen, die Aggressine darzustellen, an diese Analogie mit den Enzymen denken müssen, und uns an der Aggressintheorie noch nicht irre machen lassen, wenn es überhaupt nicht oder nicht mit Sicherheit in allen Fällen gelingen sollte, die Aggressine als Zellsekrete nachzuweisen oder auf irgend eine Weise künstlich von den lebenden Zellen zu trennen. Auch die große Verschiedenheit der Enzyme untereinander und die Vielfältigkeit der Enzyme bei einem und demselben Mikroorganismus dürfen wir nicht aus den Augen lassen.

Die wirklichen oder vermeintlichen Fortschritte, die die Wissenschaft seit Aufstellung der Aggressintheorie gemacht hat, vertragen sich ganz ausgezeichnet mit dieser, so z. B. die Lehre von der zusammengesetzten Natur der Alexine und Immunsera, sowie die Vorstellungen der Seitenkettentheorie. Die Ambozeptoren des normalen Tierkörpers sind jetzt die spezifischen Bestandteile der Abwehrstoffe des Serums, die von den Aggressinen neutralisiert werden, die Ambozeptoren der Immunsera sind gleichzusetzen Kruses Antiaggressinen (Antilysinen). Ihre physiologische Wirksamkeit — die Baktericidie oder Bakteriolyse — verdanken sie erst der Verbindung mit den Komplementen, die bei der Immunisierung sich gleich bleiben. Der Unterschied gegenüber der früheren Auffassung Kruses ist gar nicht sehr bedeutend, denn auch er hatte angenommen, daß die bei der Immunisierung entstehenden Schutzkörper nicht unmittelbar, sondern mittelbar bakterizid wirkten, indem sie die Bakterien vorbereiteten für die Wirkung des normalen Alexins. Wenn man dann noch die Auffassung von der wesentlichen Identität der immunisierenden und pathologisch wirksamen (z. B. giftigen) Stoffe der Bakterien auf die Aggressine anwendet und andererseits die Antiaggressine, wie alle Immunkörper, als normale durch eine Art von Sekretion vermehrte Seitenketten der Organzellen betrachtet, schließlich die Neutralisierung der Aggressine durch die Antiaggressine auf bindende Gruppen von unter Umständen wechselnder Affinität zurückführt, so hat man die neue Auffassung der Dinge. Stützen dafür brachten R. Pfeiffer und Friedberger[2]),

1) Den Namen Aggressine hat Kruse vor einigen Jahren gewählt, um Verwechselungen mit anderen Lysinen (Bakterio-, Hämo-, Cytolysinen) zu vermeiden. Als Angriffsstoffe im Gegensatz zu den Abwehrstoffen hatte er sie schon immer bezeichnet.

2) Berliner klin. Wochenschr. 1902. No. 25 und Festschr. für Koch. 1903. p. 35.

indem sie zeigten, daß virulente Bakterien im höheren Grade die Fähigkeit besitzen, Immunkörper zu binden und ihre Bildung im Tier hervorzurufen, als abgeschwächte. Nur hätten die Verfasser auch noch einen Schritt weitergehen und ihre bindenden und immunisierenden Seitenketten (Rezeptoren, Antiambozeptoren) der Bakterien mit den Aggressinen identifizieren und versuchen sollen, die eigentlich aggressiven, d. h. infektionsbegünstigenden Wirkungen der abgetöteten virulenten und nichtvirulenten Bakterien im Tierkörper zu vergleichen. Bei der Gleichstellung der Aggressine mit Antiambozeptoren dürfen wir aber noch nicht stehen bleiben, da es außer den bakteriziden Stoffen des Serums noch andere Abwehrstoffe im Körper gibt, wir meinen zunächst die neuerdings sehr in den Vordergrund tretenden Stimuline, Opsonine oder Bakteriotropine. Ihnen muß bei den virulenten Bakterien eine zweite Art von Aggressinen entsprechen. Ob mit den Antiambozeptoren und Antiopsoninen aber die aggressiven Stoffe der Bakterien erschöpft sind, ist sehr zweifelhaft. Von den Bailschen „tierischen“ Aggressinen können wir dabei vielleicht absehen, da sie wahrscheinlich zum Teil mit den Antiopsoninen, zum Teil mit den Antiambozeptoren identisch sind (s. u.). Aber neben diesen schon im Reagenzglas nachweisbaren bakteriziden und bakeriotropen Kräften verfügt der lebende Körper wohl noch über andere, die an die lebenden Zellen gebunden sind. Daß z. B. die in den Phagocyten vorhandenen bakteriziden Kräfte mit denen des Serums übereinstimmen, ist keineswegs bewiesen; und da sich ihnen gegenüber die gefressenen Bakterien je nach Art und Virulenz nachweislich verschieden verhalten, wird man auch hier auf den Einfluß spezifischer Aggressine zurückgreifen können.

Eine besondere Stellung gebührt wohl auch der örtlichen Immunität z. B. des Darmes. Ihr scheint ebenfalls eine spezifisch entwickelte Aggressivität, die wie die allgemeine Virulenz verloren und wiedergewonnen werden kann, zu entsprechen. So hat Prof. Kruse mit Dr. Kemp neulich im hiesigen Laboratorium beobachtet, daß ein Bakterium der Paratyphusgruppe, das ursprünglich sehr wirksam war bei Verfütterung, durch wiederholte subkutane oder intraperitoneale Verimpfung eine sehr hohe Virulenz für diese Art der Einverleibung gewann, gleichzeitig die Wirksamkeit vom Darm her aber einbüßte. Man spricht in ähnlichen Fällen gewöhnlich von Anpassungen an neue Leistungen und denkt sie sich wohl in dynamischem Sinne; nach Kruses Ansicht ist das Mittel der Anpassung hier wie auch bei den Anpassungen von Gärungserregern nichts anderes als die Entwickelung — im Keime wohl schon vorgebildeter — neuer Stoffe, d. h. Aggressine und Enzyme. Damit soll natürlich nicht gesagt werden, daß jede Anpassung der Mikroorganismen in ähnlicher Weise zu erklären wäre. So wird das nicht leicht möglich sein bei der Anpassung der Keime an Antiseptica, die von mancher Seite mit der Anpassung an das Leben im Tierkörper verglichen wird. Was hier unsere Annahme geradezu zur Notwendigkeit macht, und was dort vorläufig gar nicht in Betracht kommt, ist die Tatsache, daß die virulenten Keime im Wirtskörper Spuren ihrer Wirksamkeit zurücklassen, die nur auf spezifische stoffliche Einflüsse zurückgeführt werden können, die antibakteriellen Immunkörper. Mag man die Entstehung der letzteren sich im Sinne der Seitenkettentheorie denken oder wie man sonst will, immer müssen sie doch in irgend einer Weise zu den aggressiven Eigenschaften der Erreger in Beziehung stehen.

Inwieweit die Bakteriengifte aggressiv wirksam sein, d. h. die Vermehrung der sie erzeugenden Keime begünstigen können, ist noch

unbekannt. Das, was man gewöhnlich so nennt, ist ja stets ein Gemisch vieler Stoffe, deren Wirkung im einzelnen man nur schwer beurteilen kann; es ist aber von vornherein nicht ausgeschlossen, daß auch die Bakteriengifte wie andere chemisch wohlcharakterisierte Substanzen, z. B. Alkohol, Chloral u. s. w. dadurch, daß sie die Erzeugung oder Ergänzung oder Sekretion der Abwehrstoffe hemmen, aggressiv wirken. Manche Autoren (s. u.) sprechen von Bakteriengiften, die das dadurch erreichen sollen, daß sie die gefäßerweiternden Nerven lähmen und so die Entzündung, Auswanderung und Phagocytose verhindern. Von anderen Bakterienprodukten wird angenommen, daß sie die Bewegungsfähigkeit der Leukocyten hemmen, und dadurch die Phagocytose unmöglich machen. Wieder andere erzeugen Niederschläge in den Gewebssäften, die die Komplemente mit sich reißen und dadurch den Gewebswiderstand herabsetzen. Man kann alle oder die meisten der zuletzt genannten Einflüsse als nicht spezifische von den erstgenannten spezifischen Aggressinwirkungen trennen, denn sie werden auch hervorgerufen durch andere Substanzen und Einflüsse, die nicht von den Erregern, deren Wachstum sie befördern, abstammen (Chemikalien, Fremdkörper, physikalische Schädlichkeiten, die zur Gewebsnekrose führen, fremde Bakterienprodukte, Mischinfektionen) und veranlassen wahrscheinlich auch nicht die Bildung von Immunkörpern. Deswegen dürfen sie aber noch nicht vernachlässigt werden.

Es bedarf natürlich in jedem Falle des Nachweises, daß die aggressiven Erfolge, die man im Tierversuche mit solchen Stoffen erzielt, sich auch unter natürlichen Bedingungen wiederholen können, daß die betreffenden Wirkungen also wirkliche Faktoren der Virulenz sind. Wir kommen damit zu der wichtigen Frage, ob wir uns damit begnügen müssen, das Vorhandensein von Aggressinen als notwendiges Erfordernis für eine befriedigende Erklärung der Infektion und Immunität vorauszusetzen, oder ob es möglich ist, dafür durch Darstellung von Aggressinen unmittelbare Beweise zu bringen. Schon bevor die Aggressintheorie aufgestellt wurde, hat man Bakterienstoffe, die die Infektion begünstigen, mehrfach kennen gelernt, am ersten wohl bei Gelegenheit der Versuche, Eiterung zu erzeugen. Nach Grawitz u. A. gelingt es viel besser, die Eiterkokken im Tierkörper zum Wachsen zu bringen, wenn man ihnen ihre eigenen Kulturprodukte beigibt, und nach Fehleisen[1]) sind die im Tierkörper gebildeten Produkte der Eiterbakterien (Eiter selbst, Extrakte, durchtränkte Muskelstücke) ganz besonders geeignet, die Entwickelung zu befördern. Umfangreiche Erfahrungen mit diesen und anderen Bakterien machten dann namentlich die Schulen Bouchards[2]) und Arloings[3]). Kulturfiltrate von Staphylokokken, Pyocyaneus, Rauschbrand-, Milzbrand-, Hühnercholera-, Pseudotuberkulose- und echten Tuberkelbacillen begünstigen die Infektion mit diesen Keimen. Die Deutung dieser Ergebnisse wird von vornherein dadurch etwas verwickelt, daß die Filtrate gewöhnlich in das Blut, die Bakterien selbst unter die Haut eingeführt wurden. Bouchard erklärt die Wirkung dadurch, daß er den löslichen Produkten der Bakterien die Fähigkeit zuschrieb, die Phagocytose selbst und die gefäßerweiternden

1) Arch. klin. Chir. Bd. XXXVI. 1887. p. 977 ff.
2) Vergl. Théorie de l'infection. Verh. des 10. internat. med. Kongr. Berlin 1890. Bd. I. p. 58.
3) Courmont, Etudes sur les substances solubles prédisposant à l'action pathogène. Thèse de Lyon 1891. No. 612; vergl. auch Kruse, Mikroorg. a. a. O.

Nerven zu lähmen, und glaubte in der Bildung solcher Stoffe geradezu das Wesen der Virulenz erblicken zu müssen. Massart und Bordet[1]) wollen das nicht gelten lassen und suchen die Ursache für die Begünstigung der Infektion vielmehr in der Durchtränkung des Körpers mit chemotaktisch wirksamen Stoffen, die dann bewirken, daß die von den lebenden Bakterien an den Impfstellen selbst produzierten chemotaktischen Substanzen nicht mehr im stande seien, die Phagocyten anzulocken. Courmont läßt beide Deutungen zwar für gewisse Fälle (Pyocyaneus) zu, macht aber auf die Schwierigkeit aufmerksam, bei dem heutigen Zustand unserer Kenntnisse die Tatsachen vollständig zu erklären. Ein Umstand, der besonders schwer zu erklären, ist der, daß die Filtrate des Staphylococcus pyogenes und des Bacillus der Pseudotuberkulose nicht bloß eine vorübergehende Wirkung entfalten, wie die übrigen, sondern auf Wochen und Monate hinaus noch die Infektion befördern sollen.

Kruse selbst hatte sich bei Aufstellung seiner Theorie, abgesehen von der theoretischen Begründung, nicht nur auf die bisher angeführten Ergebnisse, sondern auf einige andere Versuche berufen. So gelang es ihm mit Bonaduce zusammen die bakteriziden Wirkungen des Blutserums im Reagenzglas und die Abwehrstoffe im lebenden Tierkörper gegenüber Milzbrandbacillen dadurch zu überwinden, daß sie Serum und Tier gleichzeitig mit größeren Mengen toter Bacillen behandelten. Hierher gehört ferner das ältere Experiment Nissens[2]). Nach Einspritzung sehr großer Mengen von Coccus aquatilis in die Venen, fand Nissen, daß das frisch entnommene defibrinierte Blut die keimwidrige Wirkung, die es vorher gegenüber diesen Bakterien besaß, verloren hatte, nicht aber gegenüber den Cholerabacillen; nach Einspritzung des Cholerabacillus büßte das Blut wieder nur seine Wirkung diesen gegenüber ein. Mit diesen experimentellen Stützen mußte sich Kruse damals aus äußeren Gründen begnügen, andere Arbeiten verhinderten ihn, seine Idee selbst weiter zu verfolgen. Inzwischen wurde die Möglichkeit, die Alexine des Serums durch Zusatz von lebenden oder abgetöteten Bakterien oder ihrer Produkte zu neutralisieren, später von verschiedenen Seiten anerkannt. Denys und Kaisin, Van de Velde, Schneider und besonders Bail[3]) und Wilde[4]) studierten den Vorgang im Reagenzglas, v. Szekely und Szana und Bastin in ähnlicher Weise wie Nissen. Wilde allein hat in einigen wenigen Versuchen die Angaben Kruses und Bonaduces bestätigt, indem er zeigte, daß auch im lebenden Tierkörper (Peritoneum) die Infektion (mit Cholera und Typhus) durch Einführung von toten Bakterien begünstigt werden kann. Es genügte unter diesen Umständen eine 10—30mal kleinere Gabe der lebenden Erreger, um den Tod der Meerschweinchen herbeizuführen. Erst vor kurzem sind dann von Wassermann und Citron[5]), Levy und Fornet[6]) und Dörr[7]) ähnliche erfolgreiche Versuche mit Extrakten und Filtraten von Typhus, Schweinepest- und Schweineseuchebacillen, Choleraspirillen u. s. w. gemacht worden. Angeregt wurden sie

1) Annal. Past. 1891.
2) Zeitschr. für Hygiene. Bd. VI. p. 498.
3) Arch. f. Hyg. 35. 1899.
4) Arch. f. Hyg. 44. 1902.
5) Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 28; Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI. p. 230.
6) Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 26.
7) Wien. klin. Wochenschr. 1906. No. 25 u. 34.

durch neue umfangreiche Versuche Bails mit „tierischen“ Aggressinen. Bail ging von der sehr ansprechenden Ueberlegung aus, daß die Aggressine in erster Linie dort zu finden sein müßten, wo die virulenten Bakterien im stande gewesen waren, die Abwehrstoffe des lebenden Körpers zu überwinden, d. h. in den Exsudaten, an der Infektionsstelle oder im Falle der Septikämie im ganzen Körper. Es ist dieselbe Vorstellung, die schon Fehleisen zu seinen oben erwähnten Versuchen und dann auch K. Bauer[1]) zu ähnlichen Ergebnissen geführt hat. Sie erscheint besonders berechtigt, wenn man wieder die Analogie mit den Enzymwirkungen berücksichtigt. Auch diese Enzyme werden vorwiegend dann gebildet, wenn sie nötig sind, d. h. in Nährböden, die zu fermentierende Stoffe enthalten. Das Gleiche könnte also sehr wohl von den Aggressinen gelten. In der Tat haben Bail und seine Mitarbeiter Weil, Kikuchi, Salus[2]) in Exsudaten von Milzbrand-, Hühnercholera-, Dysenterie-, Cholera-, Typhustieren u. s. w. aggressive Eigenschaften gefunden. Wassermann und Citron haben das bestätigt, aber mit schonend hergestellten Extrakten aus Kulturbakterien ähnliche Erfolge erzielt. Demgegenüber hält Bail im wesentlichen daran fest, daß die „tierischen“ Aggressine besondere Eigenschaften haben. Wir gehen auf diese Streitfrage hier nicht ein, sind aber der Ansicht, daß die schwankenden Ergebnisse, die Bail selbst und noch mehr Dörr mit Dysenterie-, Cholera- und einigen anderen Aggressinen hatte, gerade kein Zeugnis für die durchgängige Brauchbarkeit der von Bail angewandten Darstellungsmethode der Aggressine sind. Von vornherein kann man sich ja auch denken, daß man bei Benutzung tierischer Säfte eben nicht immer die von den Bakterien produzierten Angriffsstoffe im frischen Zustande erhalten wird, sondern daß sie vielmehr oft schon unmittelbar nach ihrer Produktion von den Abwehrstoffen des lebenden Körpers neutralisiert oder aber einfach resorbiert und verdünnt sein werden. Es ist deswegen angebracht, zur Darstellung der Aggressine wieder auf die Kulturbakterien zurückzugreifen. Auch die Enzyme der Mikroorganismen lassen sich ja aus Kulturen gewinnen, die keine fermentirungsfähigen Stoffe enthalten. Um so mehr ist das Studium der „künstlichen“ Aggressine geboten, weil die wenigen Forscher, die sich damit bisher abgegeben haben, offenbar die umfangreiche Aufgabe in keiner Weise erschöpft haben. Auch unsere Arbeit, die wir auf Anregung und unter Leitung von Prof. Kruse ausgeführt haben, soll nur als ein erster Beitrag zur Lösung der Frage betrachtet werden.

Den größten Teil unserer Versuche machten wir mit den künstlichen Aggressinen des Dysenteriebacillus, und zwar benutzten wir gewöhnlich dieselben Bakterienextrakte, die sich im hiesigen Laboratorium zur Darstellung des für Kaninchen so gefährlichen Dysenteriegifts bewährt hatten[3]). Zu dem Zwecke wurden ganz frische Agarkulturen, die je etwa 20 bis 30 Milliarden Bacillen enthielten, mit je einem Kubikcentimeter 0,8-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die Aufschwemmung 2 Stunden bei 60—65° gehalten und von den Leibern klar abzentrifugiert. Dieser Extrakt war auch für Meerschweinchen nicht ungiftig. Folgende Versuche zeigen seine Wirkung von der Bauchhöhle aus.

---

1) Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 13; Ver.-Beil. p. 99. Ueber lokale Toxine.
2) Zahlreiche Arbeiten im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI, XL, XLII; Arch. f. Hyg. Bd. LII u. ff.; Wien. klin. Wochenschr. 1905 und 1906.
3) Vergl. Kruse, Deutsche med. Wochenschr. Februar 1907.

M_1a, 270 g, erhält $^1/_8$ ccm Extrakt i. p. (intraperitoneal). Aus den mittelst Kapillar entnommenen Proben der Peritonealflüssigkeit ist zu ersehen, daß Keime fehlen, und daß ferner die Leukocyten sich nahezu in normaler Zahl befinden; hier und da sieht man einen zerstörten Leukocyt. Nach 12 Stunden werden sehr zahlreiche Leukocyten, großenteils mehrkernige, sichtbar. Das Tier bleibt am Leben.

M_2a, 250 g, erhält 1 ccm Extrakt i. p. Tod nach 5 Stunden mit keimfreier Bauchhöhle und sehr wenigen Leukocyten. Aus einem Präparat des Netzes ist zu ersehen, daß letzteres sich in normalem Zustande befindet ohne Leukocytenanhäufungen und ohne eine Spur von Entzündung.

M_3a, 270 g, erhält 1 ccm Extrakt. Die Leukocyten der Bauchhöhle verschwinden sofort und erscheinen nicht wieder. Das Tier geht nach ungefähr 10 Stunden zu Grunde und liefert 3 ccm Peritonealflüssigkeit.

M_4a, 260 g, erhält den Extrakt einer Kultur in 1 ccm KSW. Tod nach 6 Stunden mit sterilem Peritoneum. Ein Präparat der Peritonealflüssigkeit und des Netzes zeigt weiter nichts als eine spärliche Anzahl von Leukocyten.

Aus vorstehenden sowie aus noch anderen der Kürze halber hier nicht angegebenen Versuchen geht deutlich hervor, daß die minimale Dosis, welche noch fähig ist, ein Meerschweinchen von 250—300 g in 6—10 Stunden zu töten, 1 ccm Extrakt, d. h. Extrakt aus einer Agarkultur aufgeschwemmt in 1 ccm Kochsalzlösung ist. Der stetige Befund ist hierbei folgender:

Zunahme der Peritonealflüssigkeit, Verschwinden und Fernbleiben der Leukocyten, Hyperämie der Nebennieren.

Weitere Versuche zeigten uns, daß der Konzentrationsgrad des Kulturextraktes keineswegs gleichgültig ist. Wurde beispielsweise eine Kultur anstatt mit einem mit 4 ccm Kochsalzlösung extrahiert, und sodann das Ganze in das Peritoneum eines Meerschweinchens von demselben Gewicht wie die vorhergehenden eingespritzt, so hatte dies stets zur Folge, daß das Tier am Leben blieb.

M_5a erhält den Extrakt einer Kultur in 4 ccm Lösung i. p. Nach 4 Stunden sind die Leukocyten der Peritonealflüssigkeit noch immer ziemlich zahlreich vorhanden. Nach 16 Stunden ist das Tier munter, die Peritonealflüssigkeit enthält zahlreiche Leukocyten meistenteils in Häufchen. Es wird eine große Anzahl von einkernigen, an Protoplasma reichen Zellen mit rundem, schwach gekrümmtem Kern beobachtet.

Wird der in der oben angegebenen Weise hergestellte Extrakt von Dysenteriebacillen der Siedetemperatur ausgesetzt, so geht ein großer Teil, vielleicht die Hälfte, seiner Giftigkeit dadurch verloren; die mit einer sonst entschieden tödlichen Dosis injizierten Tiere bleiben am Leben und die Leukocyten der Peritonealflüssigkeit werden wenig oder gar nicht davon beeinflußt. Die Tiere zeigen aber auffallend häufig Darmprolaps, was wohl sicher der Ausdruck einer Darmlähmung ist.

M_6a, 270 g, erhält den 10 Minuten lang gekochten Extrakt einer Kultur i. p. Eine Stunde darauf enthält die Peritonealflüssigkeit Leukocyten wie in normalem Zustande, nur stellenweise bemerkt man einige derselben, die in Zerfall geraten sind. Nach 16 Stunden bedeutende Leukocytose. Am nächstfolgenden Tage tritt Darmprolaps auf. Das Tier geht infolge einer Operation zu Grunde.

M_7a, 280 g, erhält den 10 Minuten gekochten Extrakt einer Kultur i. p. Nach 30 Minuten Leukocytenzahl wie in der Norm; fast in gleicher Anzahl, wie die mehrkernigen Leukocyten, kommen auch einkernige Zellen vor. Nach 9—10 Stunden bedeutende Leukocytose, die auch nach 24 Stunden noch immer fortbesteht. Das Tier stirbt 4 Tage darauf an Darmprolaps.

M_8a, 280 g, erhält den 2 Stunden gekochten Extrakt einer Kultur i. p. Nach 30 Minuten wenige Leukocyten, nach 6 Stunden spärliche, nach 20 Stunden viele, großenteils mehrkernige. Das Tier zeigt Darmprolaps und stirbt 4 Tage darauf.

(Schluß folgt.)

Die nichtbakteriellen Aggressine.

[Institut für klinische Medizin der kgl. Universität zu Genua.
Direktor: Prof. E. Maragliano.]

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. **Ettore Tedeschi,** I. Assistenten und Privatdozenten.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Besonders durch die Forschungen von Oskar Bail und seiner Mitarbeiter haben die Aggressine in kurzer Zeit eine nicht geringe Bedeutung in der Pathologie gewonnen, um so mehr als nunmehr festgestellt ist, daß ihr Studium in enger Beziehung zu den Problemen der Immunität steht.

Bisher hat man immer nur bakterielle Aggressine (von Tuberkelbacillen, Streptokokken, Diplokokken etc.) erhalten; ich habe dagegen versucht, ein durch chemische Substanzen erzeugtes Aggressin zu gewinnen.

Wenn es auch nicht möglich ist, einen Vergleich zwischen der Wirkung eines Mikroorganismus und der einer toxischen Substanz chemischer Natur aufzustellen, so wünschte ich doch den Ausdruck „Aggressin" beizubehalten, um eine Substanz zu bezeichnen, deren Natur nicht recht bestimmt ist; diese Substanz bewirkt eine Steigerung der schädlichen Wirkung sowohl des Mikroorganismus, wie auch eventuell der chemischen von mir verwandten Substanz. Der Mechanismus, durch den sich dieses sogenannte Aggressin bildet und seine Wirkung entfaltet, ist noch nicht recht bekannt; er ist noch immer ein Gegenstand der Diskussion und wird in verschiedener Weise erklärt. Um eventuell dieses sogenannte Aggressin zu erhalten und seine Wirkung deutlich zu machen, habe ich mich auf dieselben Prinzipien gestützt, von welchen die Autoren ausgegangen sind, die sich mit den bakteriellen Aggressinen beschäftigt haben.

Mir schien es geeignet, mit zwei Substanzen zu beginnen, welche mehr als einmal vom biologischen Gesichtspunkte aus studiert worden sind, nämlich mit dem Ricin und dem Abrin; diese werden bekanntlich als Proteine betrachtet und dienten Ehrlich als Grundlagen für die Serumtherapie.

Hinsichtlich der von mir angewandten Methode möchte ich bemerken, daß die früheren Autoren die Kulturen des Bakteriums, welches sie studieren wollten, direkt in die Pleurahöhle injizierten, während ich, in der Erwägung, daß die Substanz, die ich hätte injizieren müssen, sich nicht allein vermehrte, sondern sicherlich rasch und leicht ausgeschieden worden wäre, eine Injektion von Aleuronat vorzunehmen gedachte, um eine reichliche Ansammlung von Exsudat zu erhalten und die besonders von Coenen studierte Form der Pleuritis des Kaninchens hervorzurufen. In dieser Weise war ich sicher, daß, wenn auch nicht die ganze, so doch wenigstens ein großer Teil der von mir injizierten Substanz in Kontakt mit dem Exsudat geblieben war. 14—16 Stunden nach der Aleuronatinjektion nahm ich eine endopleurale Injektion der Substanz (Ricin oder Abrin) in Lösung vor, von der ich durch Versuche die geeignete Dosis festgestellt hatte.

Nach 12—14 Stunden tötete ich das Kaninchen und aspirierte, natürlich in aseptischer Weise, das Exsudat, welches sich in der Pleura gebildet hatte. Von diesem Exsudat injizierte ich nach seiner Zentrifugierung den Kaninchen 3—4 ccm pro Kilogramm Körpergewicht subkutan; $^1/_4$ Stunde später injizierte ich einem Teile der Tiere (auch subkutan) eine Lösung, welche eine bestimmte Dosis der zu prüfenden Substanz enthielt, während der andere Teil der Kaninchen mir zur Kontrolle diente. Ebenfalls zur Kontrolle injizierte ich auch anderen Kaninchen eine gleiche Menge Ricin und Abrin wie der ersten Serie von Tieren, die vorher mit dem Exsudat behandelt worden waren.

Wenn das injizierte Exsudat das Aggressin der untersuchten Substanz enthielt, so hätten die Tiere der ersten Serie (Exsudat + Substanz) früher sterben müssen, als die Tiere der dritten Serie (Substanz allein); die Tiere der zweiten Serie sollten nur die Unschädlichkeit des angenommenen Aggressins zeigen.

Ich möchte gleich bemerken, daß meine Versuche, ein Aggressin des Ricins zu erhalten, ergebnislos verliefen, so sehr ich mich auch bemühte, durch Modifikation der endopleural und subkutan injizierten Dosen das Ziel zu erreichen.

Dagegen glaube ich behaupten zu können, daß es mir gelungen ist, ein Aggressin des Abrins zu erhalten.

Ohne hier die Methode zu wiederholen, die ich in dem besonderen Falle angewendet habe, möchte ich bemerken, daß ich die beweisendsten Resultate dann erhalten habe, wenn ich in die Pleurahöhle (nach vorangehender Injektion von Aleuronat) eine frische Lösung von Abrin im Verhältnis von 7 dmg pro Kilogramm Körpergewicht des Kaninchens injiziert habe. Das aufgefangene und zentrifugierte Exsudat erwies sich beim Kaninchen bei einer subkutanen Injektion von 3 ccm pro Kilogramm Körpergewicht als unschädlich; es verursachte nur nach 8—12 Stunden eine Temperatursteigerung.

Wenn man $^1/_4$ Stunde nach der Injektion des Exsudates demselben Kaninchen eine Dosis von Abrin injizierte, welche bei den Kontrolltieren den Tod in 48 Stunden herbeiführte, so trat der Tod des Kaninchens konstant ungefähr in der 38. Stunde ein, d. h. mit einer Differenz von ungefähr 10 Stunden. War die dem Kaninchen (das $^1/_4$ Stunde vorher mit dem Exsudat behandelt worden war) injizierte Abrindosis schwächer als die kleinste tödliche Dosis, so starb das Tier in gleicher Weise ungefähr in der 50. Stunde, während das Kontrolltier am Leben blieb.

Bei unserer gegenwärtigen Vorstellung über die Aggressine glauben wir daher in der Annahme nicht fehlzugehen, die Möglichkeit, ein dem Abrin entsprechendes Aggressin zu gewinnen, gezeigt zu haben; in der Tat verstärkt und vermehrt dieses Aggressin, in ähnlicher Weise wie die bakteriellen Aggressine, die toxische Wirkung des Abrins selbst.

Nur einen einzigen Einwand könnte man gegen unsere vorliegende Betrachtungsweise erheben; man könnte nämlich glauben, daß es sich hier anstatt um ein Aggressin einfach um ein Residuum des Abrins selbst in dem Pleuraexsudat handelte, und daß daher die toxischen Erscheinungen, welche in ausgesprochenerer Weise bei den zugleich mit Exsudat und Abrin behandelten Tieren beobachtet wurden, auf eine einfache Summation der Wirkungen des im Exsudate zurückgebliebenen und des subkutan injizierten Abrins zurückgeführt werden müßten. Diesem Einwande kann man aber leicht die tatsächlichen Daten ent-

gegenhalten: Erstens lassen die Kontrolltiere, denen nur das Exsudat selbst in hohen Dosen injiziert ist, keine Erscheinungen von Intoxikation erkennen; andererseits hätte, wenn die Bemerkung richtig wäre, auch das Ricinexsudat, welches zusammen mit dem Ricin subkutan injiziert worden war, bei den Tieren früher den Tod herbeiführen müssen, als bei den Kontrolltieren, die nur mit dem Ricin behandelt worden waren, da sich auch hier derselbe Effekt der Summation der Wirkungen hätte bemerkbar machen müssen. Da dies jedoch nicht der Fall ist, so hat der Einwand seine Berechtigung verloren.

Nachdem wir so ein Aggressin des Abrins erhalten hatten, wollten wir die Möglichkeit untersuchen, ein Antiaggressinserum herzustellen und das Studium der sogenannten Aggressine auch auf andere Substanzen chemischer Natur auszudehnen; zu diesem Zwecke haben wir Untersuchungen angestellt, bei welchen, wie wir hoffen, etwas Positives herauskommen wird.

Inzwischen scheint es uns am Platze zu sein, die Wichtigkeit hervorzuheben, welche dieses erste Resultat unserer Untersuchungen haben kann.

Der Umstand, daß wir das Aggressin des Abrins erhalten haben, erweckt in uns die Hoffnung, auch mit anderen gewöhnlicheren und für den Menschen giftigen chemischen Substanzen Aggressine und vielleicht auch Antiaggressinsera erzeugen zu können, was auch für die Therapie eine große praktische Bedeutung haben könnte.

Andererseits hat die Entstehung eines Aggressins einer chemischen Substanz auch theoretische Bedeutung, soweit sie einen Beitrag zu dem Streite liefert, der jüngst zwischen Bail und seinen Mitarbeitern einerseits und Citron und Wassermann andererseits hinsichtlich der bakteriellen Aggressine entstanden ist. Denn die ersten halten das Aggressin für ein wahres, gut definiertes Produkt, welches auf die aktive Beteiligung des Organismus zurückzuführen ist, die anderen dagegen glauben, daß das Exsudat nur als ein energischeres Lösungsmittel wirkt, um aus dem Bakterienleibe die darin enthaltenen toxischen Substanzen zu extrahieren, da man aggressinähnliche Erscheinungen auch mit Extrakten in Lösungen von Kochsalz und in normalem Serum erhalten kann.

Diese letzte Annahme mag nun, soweit es sich um Bakterienaggressine handelt, zu Recht bestehen; unserer Meinung nach kann sie aber in unserem Falle nicht aufrecht erhalten werden. Hier kann es sich augenscheinlich nicht darum handeln, daß durch ein geeigneteres Lösungsmittel ein besseres Extrakt gewonnen wird; in der Tat würde der Mißerfolg, den wir beim Ricin gehabt haben, zu dem Beweise genügen, daß es sich hier nicht um das Lösungsmittel, sondern vielmehr um eine besondere Reaktion des Organismus handelt, welche eintreten oder ausbleiben und welche je nach dem in die seröse Höhle injizierten Material variieren kann.

Biologische Wirkungen des antipneumonischen Serums.

[Institut für allgemeine Pathologie der königl. Universität zu Bologna (Direktor: Prof. G. Tizzoni).]

Von Dr. **Luigi Panichi**, Assistenten.

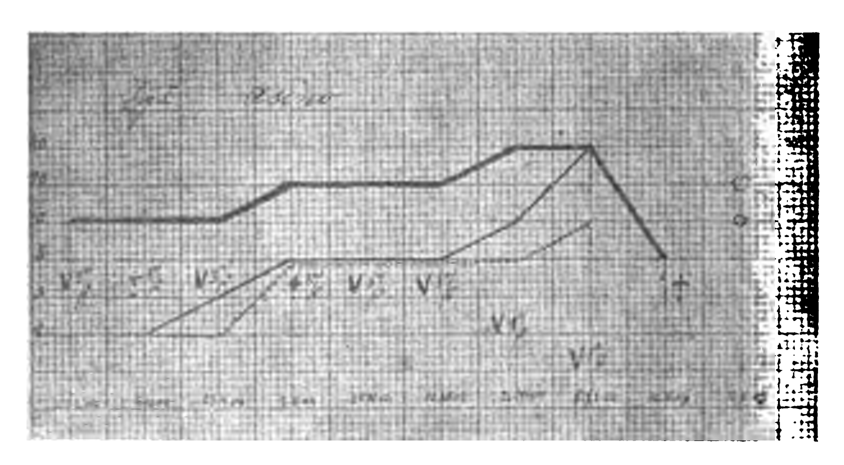
Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Berlin.

Mit 7 Figuren.

(Schluß.)

Bei einem zweiten Schafe, das der antipneumonischen Vaccination unterworfen worden war, wurden dieselben Untersuchungen wiederholt, welche die schon beim ersten auseinandergesetzten Resultate bestätigten. Ich muß hinzufügen, daß man in einem Serumversuche für das Agglutinin der entwickelten Kultur gegenüber im Vergleiche zu dem gegenüber der in Entwickelung begriffenen einen doppelten Wert fand. Dieses umgekehrte, fast paradoxe[1]) Verhältnis, das auch manchmal beim Kaninchen- und Eselserum konstatiert wurde, ist nicht häufig; so gelang es mir, dasselbe nur 5mal unter Hunderten von Versuchen anzutreffen, und zwar konnte dabei ohne irgend eine Regel eine kurative Wirkung des Serums vorhanden sein oder fehlen.

Gegenüber den erwähnten Tatsachen schien es mir angebracht zu sein, das Schicksal der Agglutinine in dem zwischen zwei Verstärkungsinjektionen liegenden Zeitraume zu untersuchen, und zwar schienen mir diese Untersuchungen sowohl bei einigen Fällen am zu Platze sein, bei denen, wie die graphische Darstellung der ersten Figur zeigt, eine Gesamtuntersuchung das proportionale Ver-



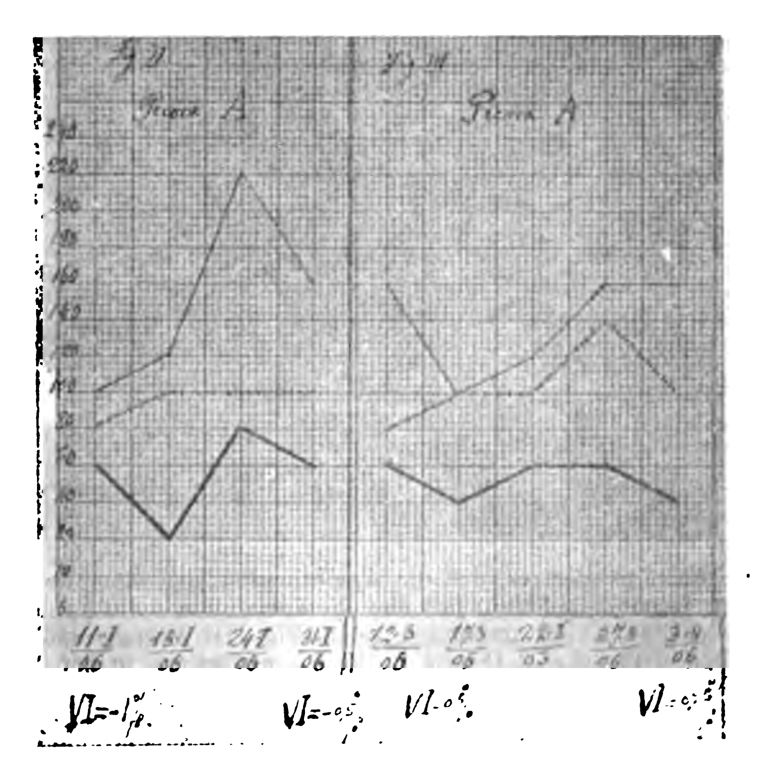
halten zwischen agglutinierender und kurativer Wirkung im Serum eines der antipneumonischen Vaccination unterworfenen Tieres hätte zeigen müssen, als auch in den anderen Fällen, in denen mit gleicher Deutlich-

1) Es handelt sich hier übrigens nicht um eine paradoxe Agglutination im Sinne von Wolks und de Waeles (Ueber Hemmungserscheinungen bei frischen Immunseris. (Wien. klin. Wochenschr. 1902) oder von Grünbaum (Theory of immun. III. Lect. Lancet. 1903), und welche de Blasi (31) auch beim Menschen gefunden hat.

keit die Nichtübereinstimmung zwischen agglutinierender und kurativer Wirkung desselben Serums hervorgeht.

Zu diesem Zwecke benutzte ich für die verschiedenen Blutentnahmen, die in kurzer Zeit erforderlich waren, nur Schafe, um mir ohne Beeinträchtigung des Untersuchungsobjektes bequem Material verschaffen zu können; auf das Kaninchen verzichtete ich wegen seiner Kleinheit, und auf den Esel, weil ich nur einen besaß und infolgedessen die Untersuchung nur auf ein einziges Tier beschränkt geblieben wäre. Beim Schafe kann man leicht aus der Jugularis eine ausreichende Menge von Blut entnehmen, ohne befürchten zu müssen, daß das Gefäß schließlich infolge der wiederholten Traumen thrombosiert und der Organismus irgend eine Störung erleidet, auch wenn man die kleinen Blutentziehungen in kurzen Zwischenräumen wiederholt.

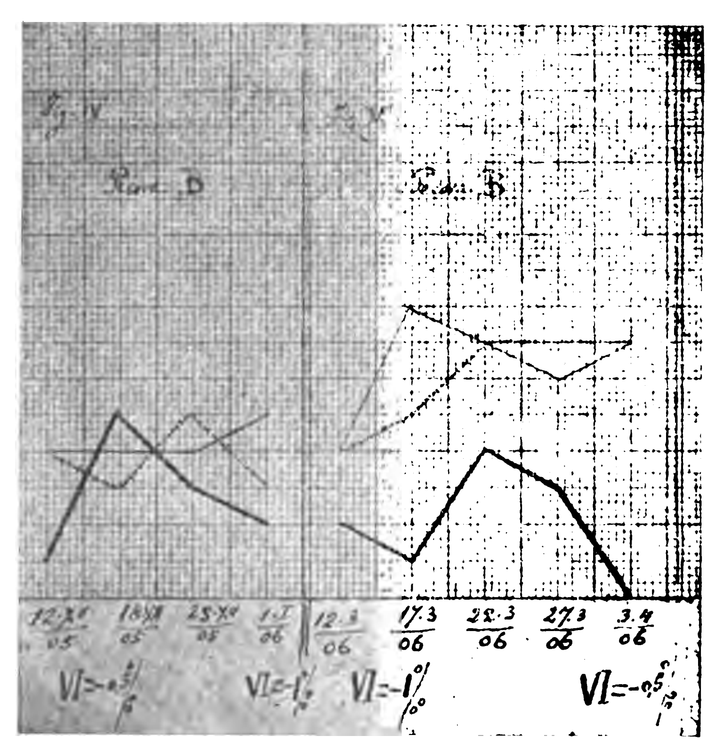
Um mich nicht in zu große Einzelheiten zu verlieren, verweise ich auf die Linien in den Figuren II, III, IV, V, auf denen ich die Werte der Agglutinine aufgetragen habe; man sieht hieraus deutlich das verschiedene Verhalten dieser biologischen Wirkung.



Es könnte nun so scheinen, als ließen sich verschiedene Perioden unterscheiden, in denen die Steigerungen und Abnahmen des Agglutinationsvermögens sowohl gegenüber der in Entwickelung begriffenen als auch der schon entwickelten Kultur miteinander abwechseln, so daß man bis zu 3—4 solcher Perioden zählen und daraus Kurven mit verschiedenen Phasen von Steigerung, Stillstand und Abnahme (32) zwischen zwei Injektionen, wie in den Figuren III—V, konstruieren

könnte; aus den Figuren II—IV geht jedoch hervor, daß man sie bis auf 2 reduzieren kann.

Bei dieser Schwankung des Agglutinationsvermögens hat die Weite der Reaktion in den äußersten Grenzen keine Bedeutung für die Angabe des Heilwertes des Serums. So steigen die Ziffern des Agglutinins um mehr als das Doppelte sowohl bei einer Zunahme und Verdoppelung der antitoxischen Wirkung (Fig. V) als auch bei ihrer Abnahme (Fig. IV); und ebenso kann die kurative Eigenschaft des Serums besser werden, während der Agglutiningehalt nur eine geringe Zunahme (Fig. II) oder eine Abnahme (Fig. III) zeigt.



Manchmal passiert es, daß die Agglutination gegenüber der in Entwickelung begriffenen Kultur fast dieselbe Variation wie die Agglutination der entwickelten Kultur gegenüber zeigt (Fig. II); häufiger indessen ist das Verhalten umgekehrt (Fig. III, IV, V), wenigstens in den verschiedenen Momenten der Reaktionszeit zwischen zwei Verstärkungen, sei es nun, daß das Tier an antitoxischem Vermögen verliert oder gewinnt.

Bei diesen verschiedenen Veränderungen der Agglutinine habe ich bei der Auseinandersetzung der oben erwähnten Tatsachen nur diejenigen in Betracht gezogen, von denen ich reden wollte, während über die anderen die Figuren selbst Auskunft geben. Wenn man auch bei einer oberflächlichen Prüfung bei der antipneumonischen Vaccination an eine direkte Beziehung zwischen agglutinierender und antitoxischer Wirkung glauben kann (bei der Behandlung des Esels während der Zeit vom 10. Juni 1904 bis zum 26. Juni 1904 und vom 10. Febr. 1905 ab), so wird man doch kurz zusammenfassend sagen müssen, daß bei der

erwähnten antipneumonischen Vaccination kein Zusammenhang zwischen den beiden biologischen Eigenschaften angenommen werden kann, wenn man der Untersuchung etwas mehr Aufmerksamkeit zuwendet, sei es nun, daß man die Reaktion des Tieres in verschiedenen nach den einzelnen Verstärkungen vorgenommenen Versuchen oder in den verschiedenen Momenten eines zwischen zwei Verstärkungen liegenden Zeitraumes betrachtet.

Diese Behauptung ist in ihrem ersten Teile, wenn auch Gruber, Pane und Courmont das Gegenteil behauptet haben, heute ein Axiom geworden, und zwar infolge der Untersuchungen von Pfeiffer und Kolle, Dieudonné, Förster (33), von Wassermann für die Hog-cholera, von Aronson für den Streptococcus, von Gengou für den Milzbrand (34), von Metschnikoff für die Pneumoenteritis der Schweine (35), von Georghiewsky für Pyocyaneus (36) und von Neufeld für den Pneumococcus selbst (37).

Das Agglutinationsphänomen ist immer stärker gegenüber der in Entwickelung begriffenen als der schon entwickelten Kultur, und zwar manchmal um mehr als das Doppelte. In einigen Fällen aber gleicht es sich aus und selten kehrt sich das Verhältnis um, ohne jedoch ebenso große Werte zu erreichen.

Keine von diesen Erscheinungen erfordert meiner Meinung nach zu ihrer Erklärung eine andere Theorie als diejenige, nach der man annimmt, daß die Agglutination ebenso wie die Präzipitation in Beziehung zu dem Bakterienalbumin steht, und daß sie, ohne auf eine schützende Wirkung bezogen zu werden, einen Index für die Resorption der Bakterienkörpersubstanz, der albuminösen zur Bakterienzelle gehörenden Teile, darstellt. Das Agglutinationsvermögen zeigt also nicht eine Immunitätsreaktion im Sinne eines Schutzes gegen die Krankheit an, sondern nur eine Reaktion gegen die antigenen Substanzen (38). Hieraus geht die Unabhängigkeit der beiden Reaktionen, der antitoxischen und der agglutinierenden, voneinander hervor, da die injizierte Kultur sehr reich an Keimen und ebenso arm an Bakteriengiften sein kann; dementsprechend wird das Tier mit reichlicher Agglutinin- und spärlicher Antitoxinbildung reagieren.

Auf das Fehlen einer Beziehung zwischen den beiden Wirkungen muß außerdem auch das verschiedene Verhalten der dieselben erregenden Substanzen einen Einfluß haben, das sie bei ihrer Absorption durch das behandelte Tier zeigen; so fanden Fränkel und Otto, daß die mit Typhuskultur gefütterten Hunde ein starkes Agglutinationsvermögen, aber eine nur schwache Immunität besaßen; andere Hunde zeigten dagegen nach intraperitonealen Injektionen die beiden Eigenschaften in gleich starker Weise ausgebildet (39).

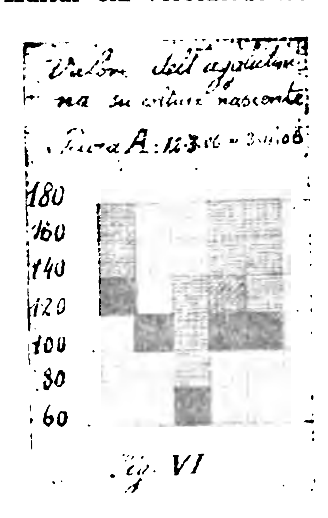
Schließlich wurde auch die Veranlagung des Organismus, auf die eine oder andere Substanz zu reagieren, nicht vernachlässigt. So hatte von unseren beiden Schafen, als sie ein gleich wirksames Serum im Werte von 0,5 ‰ ccm lieferten, das Schaf A gegenüber der in Entwickelung begriffenen Kultur ein Agglutinationsvermögen noch im Verhältnis von 1:220 und das Schaf B von 1:140; das erste Schaf zeigte sich also zur Agglutinationsproduktion geeigneter als das zweite, während sich beide bei der Serumproduktion das Gleichgewicht hielten. Die Ursache dieser Differenzen kann nicht durch die verschiedene Kulturmenge (die beim

ersten größer war) bedingt sein, die den beiden Schafen einverleibt worden war, denn die Untersuchungen von Lüdke (40) über die Dysenterie beweisen uns, daß die Menge des injizierten Bakterienmateriales keinen Einfluß auf die Produktion der Agglutinine hat; aus Analogiegründen muß man nun annehmen, daß die Beobachtungen am Dysenteriebacillus auch für den Pneumococcus Gültigkeit haben.

Bezüglich der verschiedenen Fähigkeiten, welche das Serum unserer Tiere in der Agglutination der in der Entwickelung begriffenen und der entwickelten Kultur zeigt, hat der Gedanke für mich etwas Verlockendes, den Grund hierfür in der Verwendung von mehr oder weniger entwickelten und daher an gut oder schlecht erhaltenen Keimen mehr oder weniger reichen Kulturen zu suchen. Es ist wahr, daß immer Kulturen von 19-stündiger Entwickelung benutzt wurden, ebenso wahr ist es indessen auch, daß die Entwickelung nicht bei jeder Verimpfung mit der unveränderlichen gleichen Geschwindigkeit beginnt und fortschreitet; sehr kleine Differenzen können dann an sich einem zwar entgehen, aber man kann sie hinsichtlich ihrer Wirkung abschätzen.

Ich sehe ein, daß meine Auseinandersetzungen nur Hypothesen zur Erklärung konstatierter Tatsachen sind; da ich aber bei diesen Untersuchungen kein anderes Ziel habe, als das Verhalten der studierten Phänomene zu verfolgen, so weise ich im Verlaufe der Diskussion über ihre Natur auf die vorhandenen Lücken hin, die ich auszufüllen hoffe, sobald sich mir eine günstige Untersuchungsgelegenheit bietet.

Als Zusatz zu meinen Beobachtungen über die Agglutinine muß ich noch hinzufügen, daß die Agglutininreaktion bei dem Serum eines und desselben Tieres hinsichtlich des Intensitätsgrades sowohl gegenüber der in der Entwickelung begriffenen als auch der schon entwickelten Kultur ein verschiedenes Verhalten zeigt.



Diese Tatsache zeigt sich mit Deutlichkeit in der Figur VI, d. h. während bei einem ersten Versuche die Agglutination der in Entwickelung begriffenen Kultur bei dem Serum des Schafes A bei einer Verdünnung von 1 : 120 ersten Grades war, blieb sie zweiten Grades bei einer Verdünnung von 1 : 140 und 1 : 160, um bei 1 : 180 ganz aufzuhören; dagegen war bei einem zweiten Versuche auch das Serum des Schafes A bei einer Verdünnung von 1 : 120 inaktiv, während es bei einer Verdünnung von 1 : 100 eine Agglutination ersten Grades hervorrief. Außer diesen beiden angeführten Fällen kann es auch, wie dieselbe Figur VI zeigt, andere geben, in denen die Agglutinationserscheinung infolge fortschreitender Verdünnung des Serums plötzlich oder schrittweise von hohen Werten zu 0 übergeht.

Bezüglich des Verschwindens der Agglutinine für die in der Entwickelung begriffene und schon entwickelte Kultur oder für eine von diesen beiden (bei dem Tiere, welches dieselben anfangs besaß) geben Kolle und Wassermann auf Seite 669 in Bd. IV ihres Handbuches an, daß dieselben bei marantischen Tieren fehlen, und Bonome (41)

ist der Ansicht, daß das Agglutinationsvermögen durch Bildung von Antikomplementen abnimmt.

Nach den Beobachtungen, die ich am Esel und am Kaninchen gemacht habe, kann ich nicht derselben Meinung wie die ersten Autoren sein, da unsere Tiere einen unveränderten Allgemeinzustand aufwiesen, auch wenn die Agglutinine verschwunden waren.

Daß bei den auseinandergesetzten Erscheinungen der verschiedene Alkaleszenzgrad der Kulturen eine Rolle gespielt hat, der nach Joos einen Einfluß äußern könnte[1]), wird dadurch ausgeschlossen, daß wir Kulturen verwandt haben, die immer in gleicher Weise alkalisch gemacht worden sind.

Da ich in der günstigen Lage war, Proben des antipneumonischen Serums von Pane und Römer zu besitzen, so habe ich die Agglutininuntersuchung mit diesem Material angestellt.

Eine Probe des Paneschen Serums, welche die Bezeichnung „No. 2 op. 171 — Contr. 22. XII. 1903“ trug, zeigte bei Zusatz von Trikresol gar keine agglutinierende Wirkung. Eine zweite Probe agglutinierte ohne Zusatz eines Antiseptikums sowohl die in der Entwickelung begriffene als auch die schon entwickelte Kultur; bei jener war übrigens eine leichte Andeutung des paradoxen Phänomens vorhanden, denn die Agglutination war bei einem Verhältnis von 1 : 20 stärker als bei einem von 1 : 3.

Dasselbe beobachtete ich mit dem Römerschen Serum; während dasselbe nämlich nicht die entwickelte Kultur agglutinierte, trat die Erscheinung bei der in Entwickelung begriffenen Kultur bei einem Verhältnisse von 1 : 10 auf und fehlte bei einem Verhältnisse von 1 : 3.

Präzipitine.

Bei der Immunisierung mit bestimmten Bakterien (Cholera, Typhus und Pest) zeigte Kraus, daß neben den Antitoxinen von Behring, neben den Bakteriolysinen von Pfeiffer und den Agglutininen von Gruber und Durham auch noch andere spezifische Immunkörper, nämlich die Präzipitine, erzeugt werden können. Da man ihre so nahen Beziehungen zum Agglutinationsphänomen erkannt hatte, so wurden sie ebenso wie dieses selbst, der Gegenstand umfassender Untersuchungen, sowohl im Tierreiche (Zoopräzipitine) als auch im Pflanzenreiche (Phytopräzipitine). Aber die bis jetzt noch immer fehlende Kenntnis einer Präzipitinreaktion bei der Diphtherie und andererseits die Wichtigkeit, welche die Agglutination beim Typhus erlangt hat, haben dazu beigetragen, die Untersuchungen über Agglutinine und Präzipitine verschieden zu gestalten; so besteht bei jenen über ihr Verhalten zu den Bakterien seit 1896 eine fortlaufende Reihe von neuen Untersuchungen, während diese in einem fast gleichen Zeitraume (Kraus entdeckte sie 1897) in ihrem Verhältnisse zu den pathogenen Keimen nicht gerade eingehend und oft untersucht worden sind[2]). Dasselbe zeigt sich auch in der

1) Friedberger leugnet übrigens diesen Einfluß (42), da er keine Beziehung zwischen Salzgehalt und Agglutination gefunden hat. Levi della Vida stellt dagegen in seinen Untersuchungen „Ueber das spontane Agglutinationsphänomen einiger Bakterien in Salzlösungen“ (Annali d'Igiene sperimentale. 1905. Fasc. III) die Bedingungen dieser Beziehung fest.

2) In einer meiner vorhergehenden Arbeiten über das Pneumokokkenpräzipitin habe ich, soweit es mir möglich war, die diesbezüglichen bibliographischen Notizen zusammengestellt. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907.)

Entwickelung der Untersuchungen über die Agglutinine; denn Metschnikoff kümmerte sich nicht mehr um das Agglutinationsphänomen, das schon bei dem Pneumococcus und dem Vibrio Metschnikoff beobachtet worden war, da er es nicht bei dem Coccobacillus fand, der bei der Pneumoenteritis der Schweine in Gentilly isoliert worden war (43); und so blieben die Beobachtungen über die Agglutinine in der Zeit zwischen den Pasteurschen und den Widalschen Untersuchungen, also 5 Jahre hindurch, nur vereinzelt und ohne große Bedeutung.

Obgleich nun die Bakterienpräzipitine nicht denselben praktischen Wert wie die Agglutinine erlangt hatten, so wurden sie doch auf ihr inneres Wesen hin untersucht; wir verdanken Pick (44) die genaue Kenntnis der Faktoren, die bei ihrem Auftreten beteiligt sind.

Wenn man übrigens auf Grund dieser Kenntnisse entgegen der von Kraus aufgestellten Benennung als aktiven, präzipitierenden, Anteil das Filtrat der Kultur und als passiven, präzipitierbaren, Anteil das von dem der Vaccination unterworfenen Tiere gelieferte Serum betrachten muß, so wenden jedoch nicht alle die Nomenklatur Picks, zu Ehren des Entdeckers der spezifischen Reaktion, an. Bei der Wiedergabe meiner Untersuchungen werde ich mich nach der ursprünglichen Benennungsweise richten, bei der man als Präzipitin den Serumkörper bezeichnet, welcher bei seiner Vereinigung mit einer bestimmten Substanz des Filtrats, dem Präzipitinogen, ein Präzipitat bildet; denn die Agglutinationsfähigkeit, eine aktive Eigenschaft des Serums, bringt einen fast von selbst dazu, für das Serum eine aktive Rolle bei der Präzipitation anzunehmen, während ihm nach den Untersuchungen von Pick nur eine passive zukäme.

Nach der Vorausschickung dieser Erklärung will ich zur Erläuterung der bei meinen vorliegenden Untersuchungen angewandten Technik folgendes hinzufügen. Ich habe schon bei der Behandlung der Agglutinine das Material, das ich benutzt habe, erwähnt; wie bei jenen, so habe ich auch bei den Präzipitinen dem Kulturfiltrat (das mittels Berkefeld-Kerzen gewonnen war) verschiedene Mengen des zu untersuchenden Serums in verschiedenem Verhältnisse hinzugefügt, um ein verschiedenes Reaktionsverhältnis zu erhalten; in jedem Röhrchen betrug die gesamte Flüssigkeitsmenge 2 ccm, so daß, wenn die Verdünnung das Verhältnis von 1:20 überschreiten mußte, man dem Serum physiologische Kochsalzlösung hinzufügen mußte, bevor man den Titer mit dem Kulturfiltrat vervollständigte. In jedem Falle wurden die Röhrchen zur Beschleunigung der Reaktion zunächst 4 Stunden lang im Brutschranke bei 37° und sodann in der Temperatur der Umgebung bis zu 24 Stunden vom Beginne des Versuches an gehalten. So wurden die endgültigen Werte denn nach einem Tage Kontakt zwischen Serum und Filtrat abgelesen, denn auch hier, wie bei den Agglutininen, vollzog sich die Reaktion in den geringsten Graden nur sehr langsam.

Die Wertbemessung des Präzipitates in den verschiedenen Graden wurde durch den Vergleich der Röhrchen unter einander unterstützt, welche das Präzipitat in verschiedener Menge enthielten. Für die geringen Grade leistete uns eine Lupe gute Dienste, und außerdem die Vergleichung mit einem Röhrchen mit nur 2 ccm Filtrat, das man sich bei jeder Serie als Kontrolle herstellte.

Ich muß hier gleich sagen, daß dies nicht immer klar und durchsichtig blieb, besonders nach dem längeren Aufenthalte im Brutschranke,

sondern es wurde in leichtem Grade opaleszierend, ohne jedoch eine Entwickelung von Keimen zu zeigen, durch Pneumokokken, die durch das Filter hindurch gegangen waren, und durch Verunreinigung.

Die 4 Grade, die wir bei der Wertbemessung der Agglutininreaktion unterschieden hatten, benutzten wir auch für die Untersuchung der Präzipitine, allerdings mit einem Unterschiede beim 4. Grade. Während man nämlich bei diesem bei der Agglutination eine trübe Flüssigkeit mit einem mittels der Lupe erkennbaren Staube hatte, war bei der Präzipitation eine klare Flüssigkeit, die nach dem Umschütteln durch den sich vom Boden erhebenden Staub opalfarben wurde, oder eine Flüssigkeit, die opalfarbener als das Kontrollobjekt war.

Der Bequemlichkeit halber haben wir die konventionellen Zeichen, die wir für die Agglutinine gebraucht haben, auch für die Präzipitine angewandt.

Meine Untersuchungen über die Präzipitine vereinigten sich mit denen über die Agglutinine; es wurde also, nachdem das Fehlen einer Präzipitinreaktion im Serum der Tiere vor der Prüfung festgestellt worden war, die Untersuchungsreihe nach dem Muster der für die Agglutinine angegebenen eingerichtet. Ihre Schilderung wird aber kürzer sein, da die Erscheinung sich nur auf eine Eigenschaft des Filtrats bezieht, während für das Agglutinationsvermögen die in der Entwickelung begriffene und die schon entwickelte Kultur in Betracht kam.

Ich beginne auch hier mit meinen Beobachtungen am Esel, demselben, an dem ich schon das Verhalten der Agglutinine studiert habe.

In der ersten Zeit der Vaccination fehlten diese, wie gesagt. Für das Präzipitin bestand allerdings auch eine Latenzperiode, indessen trat es rascher auf und war noch bis zu einer Serumverdünnung von 1 : 10 mit einer Intensität 3. Grades deutlich bei einer Blutuntersuchung erkennbar, die am 20. März angestellt wurde, noch bevor also der 4. Monat der Vaccination abgelaufen war (Anfang am 27. Nov. 1903), und als der Esel schon die letzte Verstärkung mit 12 ccm Virus erhalten hatte.

Interessant ist es, daß dieselbe Blutprobe, die nur ein zweifelhaftes Agglutinationsvermögen zeigte, das Kaninchen in einer Dosis von 3 ‰ ccm gegen eine rasch tödlich endende Infektion schützte.

Die präzipitierende Wirkung erreichte in dem folgenden Versuche bei einer Verdünnung von 1 : 3 den 2. Grad, als das Agglutinin bei dem knapp im Verhältnis von 1 : 1 verdünnten Serum 3. Grades war. Ich will hier nicht auf Einzelheiten eingehen, denn die graphische Darstellung auf Fig. I läßt die progressive Zunahme des Präzipitates erkennen, welches man mit einem Serum erhalten hat, das im Verlaufe der Vaccination wiederholt untersucht worden ist. Diese Vaccination dauerte fast ein Jahr, da am 8. Nov. 1904 die Werte des Agglutinins gegenüber der in Entwickelung begriffenen Kultur die des Präzipitins erreicht hatten.

Bei dem successiven Verlust, den der Esel an den erworbenen biologischen Eigenschaften (der agglutinierenden und kurativen) erlitt, hielt sich die präzipitierende Wirkung am längsten, wenn sie sich auch bis zum Verschwinden abschwächte. War sie einmal erloschen, so erschien sie niemals wieder, auch nicht während des flüchtigen Wiederauftretens der Agglutinine.

Bei der Wertbemessung der Tatsachen im ganzen könnte es nach der Prüfung der Fig. I so scheinen, als ob ein Zusammenhang, ja fast

eine direkte Beziehung in der quantitativen Zunahme zwischen Präzipitinen und Agglutininen bestände, und ferner als ob beide nach der geprüften graphischen Darstellung eine Proportionalität mit dem kurativen Vermögen des Serums, besonders in der Vaccinationsperiode vom 25. Mai 1904 bis zum 8. Nov. 1904, zeigten.

Man muß aber sogleich hinzufügen (wie es teilweise schon für das Agglutinin gesagt ist), daß die Proportionalität und der Zusammenhang nur scheinbar vorhanden sind, denn in derselben graphischen Darstellung prägt sich die Veränderlichkeit der Heilwirkung des Serums aus, während es seine präzipitierende und agglutinierende Wirkung in der Zeit vom 9. Mai 1904 bis zum 10. Juni 1904 unveränderlich bewahrt; es entgeht einem ferner nicht eine Andeutung von Nichtübereinstimmung zwischen Agglutininen und Präzipitinen in dem Versuche vom 2. Mai 1905, der uns das Vorhandensein der ersteren und das Fehlen der letzteren vor Augen führt.

Was bei der antipneumonischen Vaccination die Unabhängigkeit der verschiedenen vom Serum erworbenen biologischen Eigenschaften anbetrifft, so habe ich noch andere Belege gesammelt, über die ich unten berichten werde. Bevor ich mich aber vom Studium der beim Esel erhaltenen Resultate abwende, drängt es mich hervorzuheben, daß die Präzipitinreaktion rascher als die Agglutininreaktion auftrat, und daß beim Esel die Werte der ersten Eigenschaft im allgemeinen höher als die der zweiten oder in manchen Augenblicken ihnen gleich waren.

Die anderen eben angedeuteten Belege, welche die Unabhängigkeit der biologischen Eigenschaften des Serums untereinander bei dem behandelten Tiere bestätigen sollten, lieferten mir Kaninchen und Schafe.

So zeigten bei drei in gleicher Weise immunisierten Tieren die entsprechenden Sera in einem gleichzeitigen Versuche folgende Werte für die Präzipitine:

	1:5	1:10	1:20	1:40	1:60
1	++	++	++	+	±
2	++	++	+	+	—
3	++	++	++	+	±

Wenn nun die Daten des ersten denen des dritten entsprechen, so sind die kurativen Wirkungen nicht gleich; und während das zweite und das dritte in ihrem Präzipitingehalt differieren, so sind es gerade diese beiden Sera, die eine gleiche kurative Wirkung aufweisen. Die Nichtübereinstimmung zwischen den beiden Eigenschaften (der antitoxischen und der präzipitierenden) erscheint noch deutlicher, wenn man, abgesehen von anderen Umständen der Vaccination, die Sera nur in diesen Beziehungen miteinander vergleicht; so besaß von den 3 Seren, a — b — c, durch welche das Kaninchen in einer Dose von 0,5 ‰ ccm vollkommen geschützt wurde, das erste (a) Präzipitin in reichem Maße $\left[\frac{5}{++}\ \frac{10}{++}\ \frac{20}{++}\right]$ das zweite (b) nur in sehr geringer Menge $\left[\frac{5}{+}\ \frac{10}{-}\frac{20}{-}\right]$ und das dritte (c) zeigte bei diesen Verdünnungen gar keinen Präzipitingehalt.

Endlich lieferte ein Kaninchen, welches einen gleichen Präzipitingehalt, wie den zuletzt erwähnten, besaß, nicht ein Serum, das in gleicher Weise gegen das Virus wirksam war.

Man kann nicht behaupten, daß ein Zusammenhang zwischen Präzipitin und Agglutinin besteht, wie es das folgende Beispiel der drei Sera zeigt:

	Präzipitin			Agglutinin bei in Entwickelung begriffener Kultur				Agglutinin bei entwickelter Kultur			
	5	10	20	5	10	20	40	5	10	20	40
A	++	++	++		—	—	—		+	+	±
B	+	—	—	++	++	+		—	—	—	—
C	—	—	—	—	—	—	—	++	±	—	—

von denen A und B die gleiche kurative Wirkung besaßen.

Die Angaben, die ich gemacht habe, um zu beweisen, daß ein Zusammenhang zwischen der zur Vaccination des Tieres (Kaninchen) angewandten Behandlung und den verschiedenen vom Serum dadurch erworbenen biologischen Eigenschaften fehlt, ein Zusammenhang, der auch zwischen diesen Eigenschaften untereinander fehlt, diese Angaben sind so augenfällig, daß sie mich von der Wiedergabe anderer ähnlicher an Schafen gemachten Beobachtungen entbinden. Interessanter dagegen ist die Untersuchung der Resultate, die wir bei der Prüfung des Serums der Schafe, außer an dem vorausgesetzten Endpunkte (10—20 Tage) der nach jeder Verstärkung auftretenden Reaktion, in den verschiedenen Momenten der Reaktion selbst erhalten haben.

Auf die Linien der Figuren II, III, IV, V habe ich die Präzipitinwerte aufgetragen, die ich bei Serumversuchen im Abstande von 6 bis 7 Tagen in der zwischen zwei Verstärkungen liegenden Zwischenzeit erhalten habe, und man erkennt nun schon bei einfachem Hinsehen deutlich einige Charaktere der Präzipitinreaktion.

Vor allem ist ihr Verhalten auf den Fig. II, III, V im ganzen genommen fast das gleiche; sie läßt nämlich drei Phasen unterscheiden: eine Anfangsphase mit Abnahme, eine mit Zunahme und eine dritte wieder mit Abnahme des Präzipitingehaltes. Man müßte auch noch bemerken, daß man außer den eben betrachteten Phasen der Reaktion noch manchmal eine vierte „stationäre" unterscheiden kann, wie aus der Fig. III hervorgeht; um in noch größere Einzelheiten zu gehen, könnte man hinzufügen, daß die Werte in den verschiedenen Phasen innerhalb mehr oder weniger weiter Grenzen variieren. Aber ohne bei diesen schon für andere Vaccinationen (45) bekannten Tatsachen zu verweilen, will ich mich mit dem Gegensatze beschäftigen, der aus dem Vergleiche der graphischen Darstellungen II, III, V mit der Darstellung IV hervorgeht. In dieser zeigt die Präzipitinreaktion nur zwei Perioden, eine erste mit quantitativer Zunahme des Präzipitingehaltes und eine zweite ganz und gar abweichende mit Abnahme des Präzipitingehaltes; und während bei den drei sich gleichenden graphischen Darstellungen die Präzipitinwerte bei einiger Variation hinter den Agglutininwerten zurückbleiben, so erreicht in der graphischen Darstellung IV die Präzipitinreaktion die Grenzen, bis zu denen die Agglutininreaktion der in Entwickelung begriffenen als auch der schon entwickelten Kultur gegenüber in verschiedenen Momenten gelangt.

Diese Beziehung zwischen der Präzipitin- und Agglutininmenge erinnert ein wenig an die Beziehung, die ich darauf als beim Esel bestehend erwähnte, und die Beobachtung, die ich beim Kaninchen gemacht habe;

bei letzterem übertraf bei 20 Individuen der Präzipitingehalt 12mal den Agglutiningehalt, 6mal war er geringer und 2mal waren beide gleich.

Zu bemerken ist, daß die Versuche am Esel und am Kaninchen, auf die ich mich beziehe, dem vorher angenommenen und wahrscheinlich auch richtigen Ende der Reaktion entsprechen, die auf die Verstärkung folgt, während beim Schafe das eigentümliche Verhalten des Präzipitins, das auf Fig. IV zu beobachten ist, sich auf Momente der in der Entwickelung begriffenen Reaktion bezieht. Ich kann übrigens hinzufügen, daß auch bei 46 Versuchen, die bei Schafen an dem vorausgesetzten Ende der Reaktion vorgenommen worden waren, das Serum in der Mehrzahl der Fälle (33 Male) ärmer an Präzipitinen als an Agglutininen war. Nun läßt das variierende Verhältnis zwischen Präzipitin und Agglutinin, das man am Ende der Reaktion bei 3 verschiedenen Versuchstieren (Esel, Kaninchen, Schafe) beobachtet hat, keinen direkten Zusammenhang mit der kurativen Fähigkeit des Serums erkennen, sondern könnte uns eher an gewöhnliche Reaktionswirkungen sowohl beim Esel als auch beim Kaninchen denken lassen, die bei diesen beiden Tieren und dem Schafe verschieden sind.

Jedoch lasse ich die Frage als eine einfache Beobachtung und will jetzt nur den Gegensatz betrachten, den die graphische Darstellung des Präzipitins auf Fig. IV mit den entsprechenden Darstellungen der Fig. II, III, V aufweist.

Ich verweile mit Vorliebe bei diesem Thema, da die graphischen Darstellungen IV und V das Reaktionsverhalten betreffen, welches ein und dasselbe Tier hinsichtlich der Präzipitine nach zwei Verstärkungen gezeigt hat; bei der einen Verstärkung (dieser entspricht die graphische Darstellung IV) verlor das Schaf und bei der anderen (der die graphische Darstellung V entspricht) gewann es an kurativer Wirksamkeit seines Serums. Ich füge gleich hinzu, daß in diesem letzten Falle das Verhalten der Präzipitinreaktion den beiden anderen eines zweiten Schafes gleicht, bei dem bei den beiden entsprechenden Verstärkungen der kurative Wert des eigenen Serums stieg. Als logische Folgerung würde sich daraus ergeben, daß die Präzipitinreaktion, die in ihrer Entwickelung eine Periode des Sinkens, des Steigens und wieder eines neuen Sinkens zeigen kann, einer Zunahme der kurativen Wirkung des Serums entsprechen würde, und daß umgekehrt sich an eine Präzipitinreaktion, bei der man eine Zu- und Abnahme des Präzipitins beobachtete, eine Verminderung des kurativen Vermögens des Serums anschließen würde.

Ich erkläre hier gleich, daß ich über zu wenige Versuche verfüge, um das wirkliche Vorhandensein solcher Beziehungen behaupten zu können; aber die Deutlichkeit der Erscheinung und der Charakter der Gegenprobe, der uns in den beiden auf Fig. IV und V verzeichneten Reaktionen desselben Tieres entgegentritt, ist für eine derartige Annahme mehr als verlockend. Der Wert des Phänomens wäre dann auch nicht gering einzuschätzen, wenn es uns, in die Praxis übertragen, ein Mittel an die Hand gäbe, um vor dem Aderlasse das kurative Vermögen des Serums zu bestimmen, während es heute passieren kann, daß man ein viel weniger wirksames und womöglich inaktives oder prädisponierendes Serum erhält, wenn man auch die Blutentnahme unter Bedingungen wiederholt, welche mit anderen anscheinend identisch sind, unter denen das Serum gute kurative Eigenschaften besaß. Zu dem Verluste an Material kommt dann in diesen Fällen noch der Verlust an Zeit, da das behandelte Tier nicht gleich wieder einen neuen Aderlaß

verträgt. Auch ist es hier nicht möglich, das Serum auf seine kurative Wirksamkeit hin vor der Blutentnahme zu prüfen, weil diese Prüfung eine nicht geringe Zeit erfordert, während die für den Aderlaß vorteilhafte Zeit nicht verlängert wird.

Dieser Nachteile und des wenigstens scheinbaren Wertes des Phänomens wegen halte ich es für geboten, auf seinem Nachweise zu bestehen. Nach meinen bei dieser Gelegenheit gemachten Auseinandersetzungen könnte es so scheinen, als wäre ein Widerspruch hervorgetreten und zwar auf Grund des Zusammenhanges zwischen Präzipitin und kurativer Wirkung des Serums, denn ich habe diesen geleugnet, als ich die beiden biologischen Wirkungen am Ende der Reaktion prüfte, und ich habe ihn zugegeben, als ich ihn während der Entwickelung der Reaktion untersuchte. Jeder Gegensatz ist aber beseitigt, wenn man bedenkt, daß bei den Einzelversuchen, die man kurz als postreaktive bezeichnen kann, die absoluten Werte des Präzipitingehaltes den kurativen des Serums gegenüberstehen (ein Vergleich, der ihre Unabhängigkeit voneinander deutlich macht), während man bei der Verfolgung der Präzipitinreaktion in der zwischen zwei Verstärkungen liegenden Periode nicht den Vergleich zwischen den Werten der beiden Wirkungen macht, sondern nur das Verhalten der Präzipitinreaktion bestimmt. Wollte man sich also die Frage, die schon bei den Agglutininen aufgeworfen wurde, hier wiederholen, nämlich ob die Präzipitine bei dem Auftreten und der Bestimmung einer kurativen Wirkung im Serum nützlich, nachteilig oder indifferent sind, so müßte man, wie bei den Agglutininen, mit der letzteren Behauptung antworten, indem man sich nur auf den absoluten quantitativen Endwert des Präzipitins selbst beruft; und dieser ist uns bekannt (46).

Will man aber bei der Antwort seine Meinung auf das Verhalten stützen, welches die Reaktion während ihrer Entwickelung zeigt, dann fällt uns der Unterschied zwischen Präzipitin und Agglutinin in die Augen; denn während beim Agglutinin die Reaktion ohne irgend eine Beziehung zu dem Erfolge vor sich geht, der mit der Verstärkung hinsichtlich des Heilvermögens erreicht wird, könnte es bei dem Präzipitin den Anschein haben, als ob eine solche Beziehung vorhanden wäre. Man hätte so eine Eigenschaft, die bei der Produktion der beiden Wirksamkeiten einen Unterschied zeigte. Daß in der Tat die beiden Reaktionen beim Tiere differieren können, dafür gibt es einen Beweis, den ich schon in besonderer Weise bei dem rascheren Auftreten des Präzipitins, welches (im Anfange der Vaccination) rascher als das des Agglutinins erfolgte, erwähnt habe.

Die Untersuchungen, über welche ich in dieser Arbeit berichte, beschränken sich nur auf die einfache Beobachtung der Tatsachen, ohne ihre eigentliche Natur ergründen zu wollen. Es scheint mir übrigens nicht unangebracht zu sein, die Punkte zu erwähnen, in denen meine Resultate mit denen anderer Beobachter übereinstimmen. So wußte man übrigens schon, daß, wenn man einem Tiere, das im stande war, Präzipitin zu liefern, neue Dosen injiziert, ein Sinken des Präzipitingehaltes stattfindet (47); dies erklärt sich durch Neutralisation des Präzipitins durch die präzipitable Substanz. Was wird aber in den Fällen, in denen eine Reaktion ohne die erste Phase mit Verlust an Präzipitin (wie in Fig. IV) stattfindet, die Ursache der Erscheinung sein? Diese Ursache will ich ergründen.

Auch würde eine Feststellung von Interesse sein, warum beim Esel

die Präzipitinreaktion nur während einer gewissen Zeit vorhanden war und nach ungefähr 11 Monaten wieder verschwand.

Es ist bekannt, daß Tschistowitsch (48) ein Verschwinden des Präzipitins im Serum von Tieren beobachtete, die zu lange behandelt worden waren; aber die Schafe, die länger als der Esel behandelt worden waren, zeigten noch 3 Jahre lang in ihrem Serum die Präzipitationsfähigkeit. Es müssen also außer der Dauer der Vaccination noch andere Faktoren im Spiele sein[1]).

Im Besitze von Proben des Paneschen und Römerschen Serums suchte ich in ihnen das Präzipitationsvermögen nachzuweisen, wie ich es schon für das Agglutinationsvermögen getan hatte.

Eine Probe des Paneschen Serums, welche die Bezeichnung „No. 2 op. 171. Contr. 22. XII. 1903“ trug und mit Trikresol versetzt war, ließ keine Präzipitine erkennen. Eine andere Probe des Paneschen Serums ohne Zusatz von Desinfizientien zeigte deutlich das Präzipitationsphänomen, auch noch im Verhältnisse von 1:20[2]).

In dem Aussehen des Präzipitates machten sich im Vergleiche zu demjenigen, das man bei Verwendung vom Serum unserer Tiere erhalten hatte, Unterschiede bemerkbar, denn bei dem ersten Serum erschien das Präzipitat flockig, während es bei dem zweiten ziemlich kompakt war; ein ähnliches Aussehen hatte das Präzipitat, wie ich später zeigen werde, auch bei unserem Serum, wenn man dasselbe auf das Filtrat einer gewöhnlichen Bouillonkultur anstatt auf das Filtrat einer in der Spezialbouillon gewachsenen Kultur einwirken ließ.

Bei dem Paneschen Serum bemerkte man auch eine Andeutung des paradoxen Phänomens bei derselben Präzipitinreaktion, denn diese erschien ausgeprägter bei einem Verhältnisse von 1:20, als bei den Verdünnungen von 1:5 und 1:10.

In den beiden letzten Versuchen waren die Flocken in der Tat kleiner, ja fast staubförmig, während in den Versuchen mit Verdünnungen von 1:20 die Flocken größer waren und die darüber stehende Flüssigkeit ein klares Aussehen hatte.

Das Römersche Serum zeigte sich ohne jedes Präzipitationsvermögen.

Dieses wurde im Serum eines Pneumonikers wiedergefunden, das ich am 6. Krankheitstage untersuchte; die Reaktion war 2. Grades bei einem Verhältnis von 1:5.

Von einer derartigen Untersuchung besitze ich nur eine einzige Probe, die ich bei der Prüfung des Serums von 3 Individuen gefunden habe; von diesen reagierte nur eins in positiver Weise, während die beiden anderen ein negatives Resultat lieferten (die beiden letzten Patienten befanden sich am 4. Krankheitstage).

Ich muß noch wenige Besonderheiten hinzufügen, die ich beim Studium der pneumonischen Präzipitine beobachtet habe. Bei diesen zeigte die Reaktion in den verschiedenen mit einem und demselben Tiere

1) Prof. Centanni berichtet, daß das Schaf lange Zeit hindurch ein Autopräzipitin liefert. (Accad. fisiocritici. Siena. 26. April 1906.)

2) Prof. Centanni gibt in seinem „Beitrag zu den Autocytoreaktionen“ in der Accad. dei fisiocritici zu Siena (26. April 1906) an, daß nach dem Zusatze von Toluol ein Verschwinden des Präzipitins eintrat.

angestellten Versuchen eine verschiedene Ausdehnung. Wie es bei den Agglutininen der Fall ist, so kann die Reaktion von starken zu schwächeren Graden übergehen und manchmal ganz plötzlich verschwinden. Es schien indessen so, als ob die Weite der Reaktion (d. h. die Differenz zwischen den Verdünnungsgraden, bei denen das Phänomen in der stärksten und in der schwächsten Intensität erschien) weniger groß wäre, als bei den Agglutininen.

In den Fällen, in denen die Reaktion die stärksten Grade (den ersten und zweiten) gleich nach dem Kontakt zwischen Serum und Filtrat erreicht, bemerkt man ein Weißwerden der Flüssigkeit; es treten dann auch bald Körnchen auf, welche sich schließlich zu einer — fast membranartigen — speckartigen Haut vereinigen, die sich nach der Rundung am Boden des Röhrchens formt.

Verwendet man zum Herbeiführen des Phänomens das Filtrat einer gewöhnlichen Bouillonkultur, so erscheint die Reaktion stärker, weil sie bekanntlich (49) durch die organischen Säuren befördert wird; die zur Kultur des Pneumococcus verwandten Medien werden aber auch rasch sauer, während die Kultur in unserer Bouillon alkalisch bleibt. Man studiert also das Präzipitationsphänomen beinahe besser mit dem Filtrat einer gewöhnlichen Bouillonkultur, während die Agglutination mit einer in unserer Bouillon gewachsenen Kultur sich besser beobachten läßt, weil bei dieser, vielleicht infolge der weniger üppigen Entwickelung des Mikroorganismus, die Flüssigkeit leichter und rascher klar wird.

Schlußfolgerungen.

Fasse ich die hauptsächlichen Ergebnisse meiner Untersuchungen kurz zusammen, so glaube ich folgendes sagen zu können:

1) Mit dem Serum von Tieren (Kaninchen, Schaf, Esel), die gegen den Pneumococcus geimpft sind, läßt sich am Filtrat von homologen Kulturen das Auftreten des Präzipitationsphänomens zeigen.

2) Die absoluten Werte des Präzipitins, welche dem Ende der Reaktion nach einer Verstärkung entsprechen, haben, wie es in gleicher Weise bei den Agglutininen der Fall ist, keine direkte Beziehung zu dem kurativen Werte desselben Serums.

3) Beim Schafe könnte es so scheinen, als ob die Entwickelung der Präzipitinreaktion zwischen zwei Verstärkungen im Gegensatze zu der Agglutininreaktion für die Vorausbestimmung der Wirkung der Verstärkung auf die kurativen Eigenschaften des Serums von Bedeutung wäre.

Bologna, Juni 1906.

Literatur.

1) Tizzoni und Panichi, Einige praktische Anweisungen zur Herstellung des antipneumonischen Serums. (Memorie della R. Accad. delle Scienze dell' Istituto di Bologna. Serie 6. Vol. III.)
2) Kindborg, A., Die Pneumokokken. Vergleichende Untersuchungen mit besonderer Berücksichtigung der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LI. Heft 2. p. 216.)
3) Gruber-Durham, Die Ehrlichsche Seitenkettentheorie u. s. w. Uebers. v. Bertarelli. 1905. p. 262.
4) Metschnikoff, Étude sur l'immunité. [4. mémoire.] (Annales de l'Institut Pasteur. 1891.)
5) Charrin et Roger, Note sur le développement des microbes pathogènes dans le sérum des animaux vaccinés. (Ref. von Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. IV. 1904. p. 649.)

6) Issaeff, Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre le pneumocoque. (Annales de l'Institut Pasteur. 1893. Ref. von Kolle und Wassermann.)
7) Mosny, Kruse und Pansini, Washbourn, Zit. von Neufeld. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. L. p. 55.)
8) Arkharow, Recherches sur la guérison de l'infection pneumonique chez les lapins au moyen du sérum des lapins vaccinés. (Arch. de médic. expériment. 1892. p. 512.)
9) Bezançon et Griffon, Pouvoir agglutinatif du sérum dans les infections expérimentales et humaines à pneumocoques. (Société de biologie. Juin 5. 1897.)
10) Widal, Zit. von Bezançon und Griffon in der Arbeit von 1900.
11) Bezançon et Griffon, Etude de la reaction agglutinante du sérum dans les infections expérimentales et humaines à pneumocoques. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIV. 1900. p. 449.)
12) Pane, N., Ueber die Heilkraft des aus verschiedenen immunisierten Tieren gewonnenen antipneumonischen Serums. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXI. 1897. p. 664.)
13) Silvestrini und Baduel, Phagocytose, bakterizide und agglutinierende Wirkung bei der Pneumonie in Beziehung zu besonderen Modifikationen des Fränkelschen Diplococcus. (La Settimana medica. 1899. No. 37.)
14) Landi und Cionini, Mitteilung auf dem XI. Congr. der Soc. it. di med. int. Ref. von Gargano und Fattori (No. 17).
15) Daddi und Pesci, Ueber die Agglutination des Diplococcus. (Rivista critica di Clinica medica. 1901.)
16) Stefanelli, O., Beitrag zum Studium der Agglutination des Fränkelschen Diplococcus. (Rivista critica di Clinica medica. 1903.)
17) Gargano und Fattori, Ueber die Agglutination des Diplococcus. (Rivista critica di Clinica medica. 1903.)
18) Jehle, L., Ueber Pneumokokkenagglutination mit dem Blutserum pneumoniekranker Kinder. (Wiener klin. Wochenschr. Jg. XVI. 1903.)
19) Huber, F. O., Ueber Agglutination des Pneumococcus. (Ref. in Jahresbericht von Baumgarten. 1902. p. 61.)
20) Neufeld, F., Ueber die Agglutination der Pneumokokken und über die Theorieen der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.)
21) Centanni, E., Affinitätsbeziehungen des Pneumococcus und seines Immunserums. (Ref. in Jahresbericht von Baumgarten. 1902. p. 61.)
22) Foà, M., Ueber das Vorkommen von spezifischen Antikörpern im Paneschen Serum und im Serum von Pneumoniekranken. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. p. 232.)
23) Siehe Gargano und Fattori. l. c. No. 17.
24) L. c. No. 20.
25) Eisenberger, Phil., Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XLI. 1906. Heft 1. p. 97.)
26) L. c. No. 11.
27) L. c. No. 12.
28) Kolle, W., Aktive Immunität, mit besonderer Berücksichtigung der Schutzimpfung. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. IV. 1904. p. 413, 674.)
29) Paltauf, Die Agglutination. (Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, herausgegeb. von Kolle und Wassermann. Bd. IV. 1904. p. 761.)
30) L. c. No. 1.
31) De Blasi und de Berardinis. Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus. (Annali d'Igiene sperimentale. Bd. XIII. 1903.)
32) Paltauf, Die Agglutination. (Wie in 29. p. 675.)
33) Ref. In der Arbeit von Römer (siehe 3. p. 266).
34) „ „ „ „ „ „ („ „ „ 271).
35) „ „ „ „ „ „ („ „ „ 272).
36) Friedberger, Die bakteriziden Sera. (Handbuch von Kolle u. Wassermann. Bd. IV. p. 555.)
37) Paltauf, Die Agglutination. (Ebenda. Bd. IV. p. 663.)
38) —, Die Agglutination. (Ebenda. Bd. IV. p. 763.)
39) Ref., in der Arbeit von Römer (siehe 3. p. 270).
40) Lüdke, Untersuchungen über die bacilläre Dysenterie. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XL. 1906. Heft 3.)
41) Bonome, Ueber die Veränderungen des Agglutinin- und Präzipitingehaltes des Blutes während der Rotzinfektion. (Atti del R. Istituto veneto di scienze etc. Vol. LXIV. p. 1132.)
42) Paltauf, Die Agglutination. (Handbuch von Kolle u. Wassermann. Bd. IV. p. 742.)

43) Metschnikoff, Etudes sur l'immunité. [5. mémoire.] (Annales d'Institut Pasteur. 1892. p. 295.)
44) Kraus, R., Ueber spezifische Niederschläge. (Handbuch von Kolle u. Wassermann. Bd. IV. p. 594.)
45) Siehe 3. p. 301.
46) Kraus, R., Ueber spezifische Niederschläge. (Handbuch von Kolle u. Wassermann. Bd. IV. p. 632.)
47) Siehe 3. p. 300.
48) Tschistowitsch, K., Etudes sur l'immunisation contre le sérum d'anguilles. (Annales de l'Inst. Pasteur. 1899. p. 416.)
49) Kraus, R., Ueber spezifische Niederschläge. (Handbuch von Kolle u. Wassermann. Bd. IV. p. 638.)

On the application of physical chemistry to hemolytic serum[1].

[From the Pathological Laboratory of Indiana University.]
By **Wilfred H. Manwaring**, Sc. B., M. D.,
Associate Professor of Pathology, Indiana University.

A few years ago, there were assigned to certain serum phenomena a number of physico-chemical laws. It is immaterial for our present purpose what these laws are. Their importance, however, to the future of experimental medicine, is evident from the fact, that, if true, they not only furnish the first accurately demonstrated facts regarding the molecular composition of certain immunity substances, but that they give medical science an instrument by means of which the exact chemical composition of these most important substances might eventually be worked out.

What is apparently the simplest of the phenomena to which these laws were applied, is the phenomenon of the absorption of hemolytic amboceptor by blood corpuscles. It is apparently a very simple thing to expose washed corpuscles to accurately measured quantities of heated hemolytie serum, so allow them to stand in contact for definite periods of time, to then centrifugalize the serum free from corpuscles and determine by analysis the amount of unabsorbed amboceptor remaining in it.

In attempting this, however, experimental difficulties ware encountered. Contradictory and even paradoxical results ware obtained[2]). These findings were explained by the subsequent discovery that heated hemolytic serum is so altered by contact with corpuscles as to render it unanalyzable, by direct quantitative methods[3]).

If one is given a HCl-solution of unknown strength, and is asked to determine its strength in terms of a standard HCl-solution, it would be a very simple thing to titrate accurately measured samples of this unknown, and calculate its percentage strength.

Suppose, however, that a 4 c. c. sample is taken, and that this is found by titration to contain 20 per cent. as much HCl as an equal volume

---

1) Presented before the Joint Meeting of the American Bacteriological Society and the Section on Physiology and Experimental Medicine of the American Association for the Advancement of Science, at New York City, December 1906. Work aided by the Rockefeller Institute for Medical Research.
2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XL. p. 382.
3) Centralbl. f. Bakt. Bd. XL. p. 386.

of the standard solution. Suppose, further, that a duplicate titration with a 3 c. c. sample, gives 40 per cent. A third titration, with 2 c. c., 60 per cent. A fourth, with 1 c. c., 75 per cent. And a fifth, with 1/2 c. c., 90 per cent. We would then say that the unknown solution was quantitatively unanalyzable, because duplicate titrations do not agree.

This hypothetical result is difficult to imagine, when one is dealing with simple, inorganic substances. It is exactly the kind of result, however, that is obtained when one attempts to determine the residual amboceptor in exposed heated hemolytic serum. Duplicate analyses do not agree, and differ as widely as the results indicated in the hypothetical problem above. The exposed serum is quantitatively unanalyzable.

What is the cause of this phenomenon?

Heated hemolytic serum contains, not only amboceptor, but other substances as well. These are substances that are either originally present in the serum, or that are formed during the heating of the serum necessary to destroy ite complement. These substances, for convenience, have been referred to as the „third serum component"[1]).

Investigation shows that the third component may be at times antilytic or hemolysis-inhibiting in its action, and at other times auxilytic, or hemolysis-increasing. Also, that the third component differs in different animals, and under different experimental conditions, and that it apparently consists of a mixture of a number of quite distinct substances, each with its specific effect on hemolysis.

It is found that this third component is altered by exposure to corpuscles. A third component that originally exercises a stimulating action on hemolysis, has that action decreased by such exposure, or even replaced by an inhibiting action. And a third component that originally exercises an inhibiting action, has its inhibiting action increased.

Two hypotheses can be put forward to account for this change in the third component. First, that certain substances are absorbed from the third component by the corpuscles, during such exposure. Second, that the corpuscles give off into the third component substances that influence its action. Both hypotheses have been tested.

In order to determine whether or not substances are absorbed from the third component, washed corpuscles were exposed to a third component having the maximum hemolysis-increasing power, were then washed free from the serum, and their susceptibility to hemolysis compared with that of unexposed corpuscles. No change was found in susceptibility after such exposure. The third component, therefore, is either not absorbed by corpuscles, or, if absorbed, is held in such loose chemical union as to be easily removed by successive washings. Absorption is experimentally undemonstrable.

To determine whether or not substances are given off into the third component by the corpuscles, washed corpuscles were exposed to physiological saline, under conditions identical with those of the absorption experiments above, the salt solution simply taking the place of the heated serum. The physiological saline was then freed from corpuscles by centrifugation, and its effect on hemolysis tested.

In all cases, it was found that the exposed salt solution was strongly antilytic. Corpuscles, therefore, give off an hemolysis-inhibiting substance into the third component. Whether this accounts for the total

1) Journ. Infect. Dis. 1906. Vol. III. p. 647.

change in exposed third component or not, has not as yet been determined.

Reverting now to the original problem of testing the physico-chemical law proposed for the absorption of hemolytic amboceptor, we see that when heated hemolytic serum is exposed to corpuscles, there are three phenomena that take place. First, an as yet purely hypothetical absorption of amboceptor. Second, a demonstrable change in the third component. And, third, a giving off into the serum of antihemolytic corpuscle products[1]).

No direct measurement, therefore, of the amboceptor power of exposed serum, will give any idea whatever of the amount of amboceptor remaining in it. Experimental proof or disproof of the proposed physico-chemical law is therefore at present impossible.

Similarly the presence of an active third component, which differs in different sera prepare under identical conditions, prevents the experimental verification of the physico-chemical law proposed for the interaction of hemolytic complement and ambocepter. The physical chemistry of hemolytic serum is therefore beyond the present reach of experimental science.

Nachdruck verboten.

Beschleunigung der bakteriologischen Diagnose bei Meningitis cerebrospinalis epidemica.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Straßburg i. E.]

Von Dr. **Otto Brian**, Assistenten des Instituts.

Therapeutische und noch mehr prophylaktische Rücksichten machen es wünschenswert, möglichst bald bakteriologisch zu entscheiden, ob verdächtige Meningitisfälle durch die Erreger der epidemischen Genickstarre bedingt sind oder nicht. Gelingt es, aus der Spinalflüssigkeit durch etwa 24-stündige Kultur auf Serumagar ($^1/_3$ menschliches Serum, Ascites, Hydroceleninhalt etc. auf $^2/_3$ flüssigem Agar) gramnegative Kokken zu züchten, so wird man die Agglutination mit Meningokokkenserum (Berlin, Institut für Infektionskrankheiten) versuchen. Stellt man diesen entscheidenden Versuch in der gewöhnlichen Weise an, so ist für den positiven Ausfall möglicherweise eine Beobachtung von vielen Stunden, zur sicheren negativen Diagnose sogar von 24 Stunden notwendig. Es vergehen etwa 30 Stunden bis zur positiven, 48 bis zur negativen Diagnose.

Nach den Erfahrungen unseres Instituts kann jedoch die sichere Entscheidung schon in höchstens einer halben Stunde getroffen werden, sobald man nur erst ein positives Kulturergebnis hat. Man bedient sich dazu eines Agglutinationsverfahrens, wie es Dr. W. Gaehtgens, Assistent an der mit unserem Institut verbundenen bakteriologischen Anstalt für das Unterelsaß, zur Typhusdiagnose ausgearbeitet hat (Münchener med. Wochenschr. 1906. No. 28. p. 1351). Angestellt wird die Reaktion mit dem Agarrasen der Platten-

---

1) The second and third charges may, of course, possibly be identical.

kulturen, in derselben Weise wie sie von Kolle und Otto für Staphylokokken angegeben wurde (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XXI. 1902. p. 369): Eine kleine Oese Agarrasen (1—2 mg) wird an der Wand der Serum- und Kontrollröhrchen so zerrieben, daß eine gleichmäßig getrübte Flüssigkeit ohne gröbere Teilchen entsteht. Zentrifugiert man diese Proben nach der Gaehtgensschen Technik 10—15 Minuten lang, so sind in den Röhrchen mit positiver Reaktion die Kokken als flockiger Bodensatz ausgefallen, der auch geschüttelt deutlich Flockenform bewahrt.

Die Diagnose kann also sofort entschieden werden, wenn nur ein positives Kulturergebnis vorliegt, also in etwa 24 Stunden.

Statt Agarrasen kann man zur Agglutination auch Tropfen einer frisch bereiteten Emulsion der gezüchteten Kokken in physiologischer Kochsalzlösung verwenden, aus der vorher durch Zentrifugieren erst gröbere Teilchen entfernt worden sind. — Verfügt man über frische Meningokokkenkulturen, so kann man das Serum des betr. Patienten zur Agglutination benutzen und mit der angegebenen Methode die Diagnose fast augenblicklich stellen.

Zum Wesen der Romanowsky-Nochtschen Färbung (relative Metachromasie).

[Aus der III. med. Abteilung des Kaiser-Franz-Josef-Spitals in Wien (Vorstand: Prof. Hermann Schlesinger) und dem chemisch-bakteriologischen Laboratorium in Gleichenberg (Steiermark).]

Von Dr. **Alfred Neumann,** Wien-Gleichenberg.

Seit Romanowsky (8) gezeigt hatte, daß durch eine bestimmte Mischung von Eosin und Methylenblau in den Malariaplasmodien Chromatinsubstanzen sichtbar gemacht werden können, die man früher nicht kannte, hat man viel Arbeit darauf verwendet, zu finden, was das Wesen dieser neuen Färbung sei. Denn zunächst haftete der Methode eine große Unsicherheit an. Während mit der einen Farbstoffmarke die gewünschte karminrote Färbung der Kerne prompt gelang, war es unmöglich, mit anderen etwas zu erzielen. Man bemühte sich also zuerst, die wirksamen Marken und die gegenseitigen Mengenverhältnisse der beiden Farbstoffe zu ermitteln, und gelangte so, wenn auch mit vieler Mühe, zu praktisch verwertbaren Resultaten [Ziemann (10)].

Den nächsten Schritt machte Nocht (4), welcher zeigte, daß, wenn man etwas polychromes Methylenblau zu dem Eosin und Methylenblau hinzufügt, daß man dann die Färbung ohne wesentliche Genauigkeit beim Abmessen der einzelnen Bestandteile mit großer Sicherheit erhält, und Nocht (4) war daraufhin geneigt, dem polychromen Methylenblau resp. seinem wesentlichen Bestandteile, dem „Rot aus Methylenblau“, wie er ihn nannte [von Michaelis (3) mit Bernthsens Azur identifiziert], die entscheidende Rolle bei der Karminfärbung der Kerne und der Chromatinsubstanz der Plasmodien zuzuweisen. Dieser Ansicht stimmten eigentlich auch alle späteren Untersucher bei, außer Reuter (7),

welcher die Vorstufe des „Rot aus Methylenblau“, sein A(lkali)-Methylenblau, als den wesentlichsten Faktor der Färbung bezeichnete, welches in Methylenblau durch Hinzufügen eines Alkali entsteht, bevor sich der Nochtsche Farbstoff bildet. Letzterer läßt sich durch Aether mit roter Farbe extrahieren und stellt das Endprodukt bei dieser Behandlung des Methylenblaus dar.

Im Wesen stimmten die letzten Untersucher also wenigstens so weit überein, daß die Behandlung mit einem Alkali das Methylenblau zu der besprochenen Kernfärbung geeignet macht, ja man konnte aus diesen letzten Arbeiten den Eindruck erhalten, daß ausschließlich solches Methylenblau die Chromatinfärbung der Malariaplasmodien ermöglicht, welches alkalisch vorbehandelt ist. So weit geht wenigstens Nocht (5), welcher sagt: „Reines Methylenblau und Eosin allein geben nie die Romanowskysche Farbenreaktion, mögen die Stoffe nacheinander oder zu gleicher Zeit in fester chemischer Verbindung als ‚eosinsaures Methylenblau‘ wirken.“ Und doch haben Romanowsky und nach ihm Ziemann die schönsten Resultate bei Benutzung von reinem, frisch bereitetem Methylenblau und Eosin erhalten. Ich gebe hier die Angaben Ziemanns (10) wörtlich wieder, der nach vielen peinlich genau ausgeführten Versuchen zu folgendem Schlusse kommt: Unter Zuhilfenahme der bis jetzt gewonnenen Resultate empfehle ich zur Nachprüfung zunächst 1-proz. Lösung von Methylenblau med. puriss. (Höchst), etwa 24 Stunden alt, gut geschüttelt, zu nehmen, in der sich keine ungelösten Methylenblaustückchen mehr befinden, und 0,1-proz. Eosinlösung, bereitet u. s. w. ...

Es mußte das den Gedanken wachrufen, daß die Eigenschaft, welches ein einfaches Eosin-Methylenblaugemisch resp. das dabei ausfallende neutrale Salz zu der bestimmten Färbung befähigt, zwar eine Verstärkung erfährt durch alkalisches Methylenblau, daß aber das Wesen beider Methoden dasselbe sei.

Zunächst sei noch hervorgehoben, daß Nochts „Rot aus Methylenblau“, welches jetzt als Azur rein dargestellt wird, für sich allein angewendet, ebensowenig wie Methylenblau das Chromatin karminrot zu färben geeignet ist, und daß es dazu erst in den heute gebräuchlichen Farbstofflösungen, z. B. dem Gemisch von Giemsa u. a., dazu befähigt wird, eine Tatsache, die auch von Giemsa (1) gefunden wurde und die auch ich bei meinen Untersuchungen bestätigt fand.

Das allein zwingt uns zu der Annahme, daß zum Zustandekommen der prachtvollen Rotfärbung der Kerne bei Romanowsky ein weiteres Moment hinzutreten muß.

Der nächstliegendste Gedanke war natürlich der, daß dies vielleicht durch das Eosin besorgt werde. Denn wenn Ziemann (10) in seinen Gemischen frisches Methylenblau und Eosin anwendete und die charakteristische Färbung erhielt, so mußte der rote Ton entweder durch Aufnahme des neutralen Farbsalzes, das sich dabei bildete, oder durch Umwandlung des bereits aufgenommenen Methylenblaus in eine rote Modifikation durch das Eosin entstehen. Gegen die Möglichkeit, daß das Salz den Farbenton bedinge, spricht der Umstand, daß das Chromatin basophil, niemals neutrophil ist und daß das Salz ebenso wie das Eosin-Azur [Michaelis (3)] gar nicht rot ist. Es blieb also noch die andere Möglichkeit zu erwägen, ob ein Methylenblau, welches bereits in das Gewebe eingedrungen ist, durch das Eosin in eine rote Modifikation umgewandelt werden kann. Versuche, welche ich an normalem und an

Malariablut angestellt habe, machten mir auch diesen Vorgang nicht sehr wahrscheinlich. Wenn das Eosin auf das mit Methylenblau vorgefärbte Präparat einwirkt, so bildet sich bekanntlich ein eosinsaures Methylenblau, welches sich im Ueberschuß von Eosin löst. Dieser Vorgang kommt einer Entfärbung gleich und wurde auch von Ziemann (10) zu diesem Zwecke bei überfärbten Präparaten zur Verbesserung derselben benützt. Auch ich konnte niemals, bei noch so vorsichtiger Anwendung des Eosins, etwas anderes als Entfärbung erzielen, gewiß keine Umwandlung des Blau in Rot. Vielleicht hier und da gelang es zunächst, einen stahlgrauen Stich in dem blauen Ton der Kerne hervorzurufen, und auch das nicht sicher, bei weiterer Einwirkung aber kam es zur Auslaugung des Methylenblaus.

Das macht die Annahme, daß das Methylenblau nach seiner Aufnahme in das Gewebe in eine rote Modifikation umgewandelt werde, zunächst nicht wahrscheinlich. Jedoch sprach für die Möglichkeit der Umstand, daß solche Umwandlungen tatsächlich ausführbar sind, wenn es auch mit Eosin nicht gelang. Ich hatte früher gelegentlich versucht, mit Methylenblau vorgefärbte Präparate mit Pikrinsäure nachzubehandeln. Es zeigte sich dabei, daß die Kerne nach und nach den rein blauen Ton verlieren und blauviolett, violett bis rot erscheinen. Es ist aber nötig, die Pikrinsäure in einer Verdünnung von 1:10000 zu verwenden. Das Protoplasma der Lymphocyten blieb dabei hellblau, die Blutplättchen nahmen den gleichen Ton an wie die Kerne und ebenso erschien auch das Chromatin der Malariaplasmodien rot gefärbt. Noch viel leichter gelingt diese Umwandlung aber, wenn man das mit Methylenblau (1:20000, 10 Minuten) vorgefärbte Objekt für 1 Minute in eine 0,1-prom. Gallussäure legt. Ein so behandeltes Präparat ist einem nach Giemsa gefärbten in vieler Beziehung ähnlich: Kerne der weißen Blutzellen rot (oft wunderschön karminrot), die Erythrocyten schwach rötlich — wenn sie hinreichend Methylenblau aufgenommen hatten — sonst blaßgelb, die Plasmodien graublau, das Chromatin derselben rot, oft leuchtend rot. Auch die Maurersche Tüpfelung tritt deutlich hervor und auch hier nehmen die Plättchen den gleichen Ton an wie die Kerne. Nur die Lymphocytenleiben sind hellblau und geben so einen schönen Kontrast. An Schönheit kann sich natürlich ein so gefärbtes Präparat mit einem nach Giemsa behandelten nicht messen und die vorangegangene Schilderung ist auch gar nicht als neue Färbung gedacht. Sie soll nur zeigen, daß das Methylenblau nach seiner Verbindung mit dem Chromatin, sei es im Kern der weißen Blutzellen, sei es im Chromatin der Plasmodien, durch Einwirkung gewisser saurer Körper in eine rote Modifikation umgewandelt werden kann. Eine ähnliche Behandlung von Methylenblaupräparaten hat Unna (9) im Jahre 1893 angegeben. Er verwendete polychromes Methylenblau und konzentrierte Tanninlösungen und fand, daß durch diese Behandlung einzelne Gewebsbestandteile das „Methylenrot“ (Azur?) behalten, andere das Methylenblau. Dieser Vorgang scheint Laveran (2) vorgeschwebt zu haben, der nach Giemsa vorgefärbte Präparate noch mit Tannin nachbehandelte. Unna betrachtet den Vorgang als Differenzierung. Davon kann in meinem Falle nicht gesprochen werden, da ich zu meinen Färbungen reines, frisch bereitetes Methylenblau verwendete. Viel eher könnte man hier von einer Art Metachromasie sprechen, und würde es als eine „relative Metachromasie“ bezeichnen, weil man hier von einer wirklichen nicht sprechen kann. Denn dazu gehört, daß die metachromatische Nuance die Farbe der freien

Base des Farbstoffes hat. Und diese ist bekanntlich bei Methylenblau blau. „Relativ“ ist die Metachromasie in unserem Falle auch deshalb, weil sie nicht spontan auftritt, sondern zu ihrer Entstehung eines Mittels von saurer Konstitution, einer „metachromasierenden Substanz“, bedarf (Gallussäure, Pikrinsäure).

Noch mit einem dritten Körper konnte ich leicht die Umwandlung des blauen Tons des Chromatins in rot erzielen, und das war ein saurer Farbstoff, den ich auf folgende Weise aus einer alkalischen Methylenblaulösung gewann. Schüttelt man eine irgendwie alkalisch gemachte Methylenblaulösung, z. B. polychromes Methylenblau, mit Aether aus, so geht in denselben die Base des Methylenviolett und des Azur über — das Rot aus Methylenblau Nochts. Läßt man jetzt den Aether verdunsten, so ist nur ein Teil des Rückstandes in Wasser leicht löslich, ein anderer löst sich nur wenig uud nur bei höherer Temperatur, der Rest nur in geringen Mengen in heißem Wasser mit graublauer Farbe, leicht in Alkohol mit blauer Farbe (im durchscheinenden Licht dunkelrot) in Aether rot. Dieser Farbstoff färbt aus Aether und Alkohol gar nicht und nur aus erwärmten wässerigen Lösungen und ein wenig aus kalten, sehr dünnen Lösungen sauer, d. h. es färben sich nur eosinophile Granulationen und rote Blutzellen, dagegen gar nicht die Kerne. Man muß den Rückstand oft mehrere Male mit warmem Wasser waschen, um sicher nur den sauren Farbstoff zu erhalten. Rein dargestellt, zeigt er ebenfalls die Eigenschaft sowohl das in den Kernen als auch das im Chromatin der Plasmodien aufgenommene Methylenblau nachträglich in ein schönes Rot umzuwandeln.

Ich möchte ihn nach dem Vorgang Nochts als „Grau aus Methylenblau“ bezeichnen.

Wir haben also gesehen, daß reines, frisch bereitetes Methylenblau, und nur solches wurde bei allen meinen Färbungen benutzt, nach seiner Verbindung mit dem Gewebe in eine rote Modifikation umgewandelt werden kann, wenn man nachträglich gewisse saure Körper darauf einwirken läßt. Aber gerade mit Eosin war es uns nicht gelungen, und so schien es, daß dieser Vorgang zur Erklärung der Romanowsky-Färbung, wenigstens in ihrer ursprünglichen Form, speziell wie Ziemann (10) sie ausführte, nicht herangezogen werden kann. Denn Ziemann verwendete frisch bereitete Methylenblaulösungen ohne Alkalizusatz, wenigstens in seiner ersten Arbeit, und so konnte auch der oben beschriebene saure Farbstoff (Grau aus Methylenblau) nicht gut in Betracht gezogen werden.

Eigentümlicherweise kann man aber aus den wässerigen Lösungen gewisser Methylenblausorten, auch wenn sie frisch bereitet wurden, durch Ausschütteln mit Aether einen Farbstoff erhalten, der, in Aether gelöst, rot erscheint, sich in Wasser in geringem Grade mit graublauer, in Alkohol mit blauer Farbe löst und sauer färbt, kurz sich anscheinend gleich oder ähnlich dem oben beschriebenen sauren Anteil alkalisch gemachter Methylenblaulösungen verhält. Und auffallenderweise ist der Farbstoff gerade in jenen Marken enthalten, mit welchen Ziemann die Romanowsky-Färbung gelungen war, nämlich im Methylenblau med. puriss. (Höchst) und im Methylenblau rectif. (Ehrlich), während ihm andere Marken das gleiche Resultat nicht gaben, z. B. Methylenblau extra D Friedrichsfeld, Berlin.

Wir waren so bei Successivfärbungen mit den Bestandteilen der Romanowsky-Ziemannschen Farbgemische im stande, die Rot-

färbung der Chromatinsubstanzen zu erzielen, indem wir zuerst mit frisch bereiteter Methylenblaulösung vorfärbten und dann den erwähnten sauren Farbstoff mit Eosin folgen ließen oder besser ein Präparat, das mit einer Lösung des Methylenblau-Eosinsalzes gefärbt war, nachträglich der Einwirkung dieses sauren Farbstoffes aussetzten. Das neutrale Farbsalz, aus Eosin und Methylenblau hergestellt, mit Wasser rein gewaschen und dann getrocknet, wurde in Alkohol gelöst, die Lösung in der Wärme etwas eingedickt. Läßt man die Präparate etwa 10 Minuten färben, so erscheint das Methylenblau etwas überfärbt zu haben, denn das Ganze hat eine blaurote Nuance angenommen. Mikroskopisch sind die Chromatinsubstanzen ausgesprochen blau tingiert. Wenn man ein solches Präparat mit dem besprochenen sauren Anteil (oder Verunreinigung?) der genannten Methylenblaumarken behandelt, so tritt ebenfalls eine nachträgliche Rotfärbung der vorher blau gefärbten Chromatinsubstanzen ein, doch bedarf es einer starken Ueberfärbung mit dem Eosin-Methylenblau und langdauernder Nachbehandlung (mehrere Stunden) mit dem genannten sauren Farbstoff.

Nun haben wir es aber bei allen Romanowsky-Methoden nicht mit Successiv-, sondern mit sogenannten Simultanfärbungen zu tun. Wir verwenden entweder, wie der Begründer der Methode, Farbgemische, die ad hoc frisch bereitet werden, oder Farblösungen, in denen, wie bei Giemsa, alle notwendigen Bestandteile bereits vorhanden sind und die eine Nachbehandlung nicht erfordern. Und es fragt sich nun, ob die bisher gewonnenen Resultate das Wesen der Färbung erklären können.

Da möchte ich zunächst den folgenden Versuch erwähnen. Bringt man in eine Pikrinsäurelösung eine Methylenblaulösung, so fällt sofort ein dicker, blauroter Niederschlag aus, der in Wasser fast gar nicht, in Alkohol ziemlich gut löslich ist. Setzt man von dieser gesättigten alkoholischen Lösung etwa einen Teil zu zwei Teilen destilliertem Wasser, so färbt diese Flüssigkeit so, daß nach einiger Zeit, oft erst nach Stunden, wenn nämlich der Farbstoff wieder ausgefallen ist, die Erythrocyten und α-Granulationen gelb, die Kerne der Leukocyten rot bis rotviolett, die Lymphocytenleiber hellblau erscheinen, also gerade so, als wenn man die beiden Komponenten nacheinander einwirken läßt. Dasselbe erhält man, wenn man den oben erhaltenen Niederschlag, nachdem er mit Wasser gewaschen wurde, in einer entsprechenden Menge Wasser über der Flamme erhitzt. Es löst sich dann in geringen Mengen das neutrale Farbsalz. Bringt man in die noch warme (nicht zu heiße) Lösung das Präparat und läßt es darin einige Zeit, eventuell Stunden, bis wieder ein Niederschlag ausgefallen ist, so erhält man ebenfalls die oben beschriebene Färbung.

Das muß uns daran erinnern, daß die früheren Untersucher als Grundbedingung für das Zustandekommen einer richtigen Romanowsky-Färbung angegeben haben, daß sich ein Niederschlag bilde und daß die Färbung desto besser gelinge, je massiger dieser Niederschlag sei. Und auch wir konnten bei der Pikrinsäure-Methylenblaufärbung die Beobachtung machen, daß die Rotfärbung der Kerne erst auftrat, bis sich ein Niederschlag bildete, oft erst einige Stunden danach. Um zu erfahren, was die Ursache davon sei, versuchte ich in dem gelöst gebliebenen Teil (nach Filtration des Niederschlages) zu färben, und konnte sehen, daß dieser Teil nur sauer, d. h. nur gelb färbte.

Das erweckt den Gedanken, daß beim Ausfallen eines neutralen Farbsalzes vielleicht der in Lösung gebliebene Teil stärker saure Eigen-

schaften besitzt als die ursprüngliche Lösung. Jedenfalls gibt dieser Vorgang einen Fingerzeig, wie sich der Vorgang bei der Färbung mit diesen neutralen Farbgemischen und auch mit den Lösungen der neutralen Farbsalze vollzieht. Zuerst, wahrscheinlich solange dieselben in Lösung sind, überwiegt die Methylenblauwirkung, wenn aber aus den Lösungen die Farbsalze zum größten Teile ausgefallen sind, enthält der in Lösung gebliebene Teil einen hauptsächlich sauer wirkenden Farbstoff. Wir können es bei jeder Färbung mit Eosin-Methylenblau oder anderen Verbindungen des letzteren, ob dieselben durch das neutrale Farbsalz oder durch Zusammengießen der beiden Komponenten erfolgt, beobachten, daß das Präparat zuerst ganz unter der Methylenblauwirkung zu stehen scheint, als ob es in reinem Methylenblau läge, und erst nach und nach den Eosinton annimmt. Nun erfolgt allerdings bei diesen Färbungen die Aufnahme beider Farbstoffe gleichzeitig. Denn wenn man ein noch bläulich tingiertes Präparat in dünne Essigsäure legt, so tritt makroskopisch bald ein Farbenumschlag in Rot ein. Tatsächlich scheint aber der saure Farbstoff erst später zu voller Wirksamkeit zu kommen und das Methylenblau zu verdrängen, nicht nur aus den überfärbten Erythrocyten, sondern bei zu langer Anwendung auch aus den basophilen Geweben. Es macht also den Eindruck, daß zuerst die Wirkung des basischen Farbstoffes und erst dann die des sauren vorherrscht, so daß in gewissem Sinne auch bei diesen Simultanfärbungen eine Successivwirkung der beiden Komponenten stattfindet.

Und so dürfte der Vorgang auch bei allen jenen Färbungen zu erklären sein, bei denen Azur in Verwendung ist. Denn dem Azur gegenüber wirkt Eosin „metachromasierend". Auch Azur färbt, für sich allein angewendet, die Chromatinsubstanzen nicht karminrot. Die von Michaelis (3) gemachte Beobachtung, daß die Kerne bei sehr langer Färbedauer bei reinem Azur auch ohne Zusatz von Eosin rot werden, ist Giemsa nicht gelungen. Und auch ich konnte die charakteristische Karminfärbung der Chromatinsubstanzen mit Azur allein nicht erhalten, wohl aber, wenn ich, worauf Giemsa (1) aufmerksam gemacht hat, auf ein mit Azur vorgefärbtes Präparat eine dünne (0,05-prom.) Eosinlösung einwirken ließ. Dann trat die Karminfärbung prachtvoll auf. Nocht (6) hat übrigens darauf hingewiesen, daß das Eosin bei der Romanowsky-Färbung nicht als Farbe, sondern als chemischer Körper wirkt. Man kann Eosin dabei überall durch seine einfacheren Vorstufen: Fluorescin, Resorcin ersetzen. Auch Hydrochinon und Brenzkatechin geben mit Azur die Romanowsky-Färbung.

Bewirken also diese Körper im Azur nach seiner Aufnahme ins Gewebe eine Umwandlung, und ist dadurch bei allen jenen Färbungen, bei denen Azur und Eosin angewendet werden, das Auftreten der Karminfärbung erklärt, so müssen wir bei jenen Färbungen, bei denen neben Eosin nur frisch bereitete Methylenblaulösungen, die kein Azur enthalten, angewendet werden, annehmen, daß das vom Gewebe aufgenommene Methylenblau diese Umwandlung erfährt, durch die oben beschriebene Verunreinigung der bestimmten Methylenblaumarken, mit denen Ziemann die Färbung gelungen war.

Versteht man unter Metachromasie die Eigenschaft gewisser basischer Farbstoffe, verschiedene Gewebsbestandteile mit verschiedener Nuance zu färben, so glaube ich, steht nichts im Wege, auch diese Färbungen sowohl mit Azur als auch mit reinem Methylenblau als metachromatisch zu bezeichnen. Wir müssen aber diese Metachromasie wohl von der

echten unterscheiden, bei der die verschiedene Nuance von selbst auftritt und immer die Nuance der freien Base ist, und können diese Art der metachromatischen Färbung, wie ich es oben schon tat, als „relative Metachromasie" bezeichnen. Die Romanowskysche Färbung beruht also in jedem Falle, ob man sie nach Ziemand oder nach Nocht oder nach einer aus der Nochtschen Angabe entstandenen Methode ausführt, auf einer relativen Metachromasie.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Hermann Schlesinger für das rege Interesse an der Arbeit, Herrn Direktor Dr. Nocht in Hamburg und Herrn Dozenten Dr. Rudolf Schmidt für die liebenswürdige Ueberlassung von Blutpräparaten von Malariakranken meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Giemsa, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII. p. 307.
2) Laveran, Compt. rend. de la soc. de biol. 1903. No. 9.
3) Michaelis, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIX. No. 19.
4) Nocht, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIV. No. 22.
5) — —, ibid. Bd. XXV. No. 21/22.
6) — —, Encyklopädie der mikroskopischen Technik. p. 788.
7) Reuter, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX. No. 6.
8) Romanowsky, St. Petersb. med. Wochenschr. 1891. No. 34 u. 35.
9) Unna, Zeitschr. f. prakt. Dermat. 1893. No. 9.
10) Ziemann, Ueber Malaria und andere Blutparasiten. Jena (Fischer) 1898.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Freie Vereinigung für Mikrobiologie.

Mit Rücksicht auf den im September dieses Jahres in Berlin stattfindenden Internationalen Hygienekongreß ist, den Wünschen zahlreicher Mitglieder entsprechend, seitens des Ausschusses beschlossen worden, die **diesjährige während der Pfingstwoche in Berlin geplante Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie ausfallen zu lassen.**

Ort und Zeit der nächstjährigen Tagung wird den Mitgliedern seinerzeit mitgeteilt werden.

Im Auftrage des Ausschusses:
Der Vorsitzende:
Dr. Gaffky.

Nachdruck verboten.

Ueber die Variabilität der Pigmentbildung bei den Mikroorganismen

und ihre Abhängigkeit von gewissen Bedingungen bei der von mir isolierten Streptothrix.

[Aus der chirurgischen Klinik der kgl. Universität zu Neapel (Prof. Dr. Antona).]

Von Prof. **Rocco Caminiti,** Privatdozent.

Man ist bekanntlich allgemein der Ansicht, daß die Pigmentbildung und die Fluoreszenz der Mikroorganismen unter anderem von gewissen Bedingungen und Verhältnissen des Nährbodens abhängig seien. Gessards Studien sprachen dafür, daß die Fluoreszenz, speziell des Pyocyans, an die Gegenwart von Phosphaten im Nährsubstrat gebunden sei. Cathelinau, Nicolle, Bey und Lepierre jedoch sprachen sich entschieden dahin aus, daß diese Beobachtung nicht bei allen das Pigment- und Fluoreszenzphänomen zeigenden Bakterien zutreffe, somit keine Allgemeingültigkeit habe. Dieser letzteren Ansicht hat sich auch Prof. Cimmino angeschlossen, der kürzlich seine Studien über einen neuen pigmentbildenden Bacillus veröffentlicht hat.

Im allgemeinen kann man sagen, daß die Bildung dieser Pigmente bei einigen Bakterien — abgesehen von den speziellen Bedingungen, wie Wärme, Licht und Temperatur — von gewissen chemischen Substanzen abhängig ist, die dem Nährmedium beigefügt sind (Cimmino).

Außer der Zusammensetzung des Nährbodens sind jedenfalls seine Reaktion, seine feste oder flüssige Konsistenz sowie das Alter der Kultur ausschlaggebend, und alle jene Bedingungen, welche die Entwickelungsenergie der Keime schwächen, wirken hemmend auf die Pigmentbildung ein.

Ebenso kennt man die große Mannigfaltigkeit der verschiedenen von den Bakterien produzierten, sowohl einfachen wie Fluoreszenzpigmente, die sich im Nährboden ausbreiten. Vom Gelb der Staphylo-

kokken und der Sarcine zum Grün oder Gelbgrün des Bacillus pyocyaneus, zum Blau des Bacterium syncyaneum, dem Milchblau zum Rot des Bacillus prodigiosus und des Bacterium kiliense, zum Violett des Bacterium violaceum, zum Amethystviolett der Streptothrix violacea, zum Schwarz der Streptothrix chromogena, zum Grün der Streptothrix viridis und jener von mir isolierten existiert eine ganz endlose Reihe von verschiedenen Färbungen und Farbenabstufungen.

Gleichermaßen ist bekannt, daß diese Pigmentsubstanzen sich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol oder Schwefelkohlenstoff lösen, daß sie mit Sodalauge verseifbar sind und im trockenen Zustande eine hellgrüne, grünblaue oder dunkelblaue Färbung annehmen, wenn sie mit Schwefelsäure oder Salpetersäure (Produkt des Lipocyanins) versetzt werden. Sie gehören der Klasse der Lipochrome oder Luteine an und werden als Liporodine bezeichnet, wenn sie rot, als Lipoxanthine, wenn sie gelb sind (Macé).

In den zahlreichen Kulturen, die ich im Verlauf von über 3½ Jahren zum Studium einer von mir isolierten und beschriebenen Streptothrix-Art angelegt habe, konnte ich eine sich konstant zeigende wichtige Eigentümlichkeit beobachten, die auch Cimmino beim Studium seines Bacillus konstatiert hat, nämlich das Variieren des Pigmentes, wenn dem Nährboden Glycerin beigefügt wird.

Tatsächlich konnte ich in meinen Kulturen, die auf dem einfachen und zuckerhaltigen Agar, in der Fleischbrühe, im Serumextrakt, in der Gelatine anfangs weiß waren, konstatieren, daß ihre Pigmentfarbe sofort in Braun oder Dunkelbraun oder geradezu in Schwarz überging, sobald sie in ein beliebiges Medium versetzt wurden, welches Glycerin enthielt.

Wie ich ferner in zahlreichen Versuchen und Experimenten feststellen konnte, war dieses Phänomen wesentlich an die Gegenwart von Glycerin im Nährsubstrat gebunden, da es regelmäßig ausblieb, sobald die braunen oder schwarzen Kolonieen in Medien versetzt wurden, die kein Glycerin enthielten. In diesem Falle konnte man als schwarze oder braune Zentralmasse die Fragmente sehen, die mitten unter die weißen auf dem neuen glycerinfreien Nährboden gewachsenen Kolonieen versetzt waren.

In vielen anderen Fällen behielten die in ein mäßig glycerinisiertes flüssiges Medium verbrachten weißen Kulturen die darin angenommene braune oder schwarze Färbung für längere Zeit bei; wenn aber dann die Kultur ziemlich alt geworden war oder wenn die Membran, welche sich infolge des Zusammenströmens der Kulturen an der Oberfläche gebildet hatte, bei Erschütterung der Cylinder zu Boden sank, zeigten sich die neuen, an der Oberfläche selbst wachsenden Kolonieen von neuem in graulich-weißer Färbung. Diese Tatsache muß augenscheinlich dem Umstande zugeschrieben werden, daß mit dem Altern der Kultur der Nährboden allmählich seinen Glyceringehalt eingebüßt hatte.

Das bedeutendste Moment jedoch, welches zu konstatieren ich Gelegenheit hatte, ist das Variieren des Intensitätsgrades der Färbung je nach dem Prozentgehalt an Glycerin. Man konnte tatsächlich konstant beobachten, daß die Beimengung eines kleinen Prozentsatzes von Glycerin zur Fleischbrühe oder zum Agar oder Serum oder Gelatine eine hellbraune Färbung hervorrief, während ein größerer Prozentsatz das Braun in ein intensives Dunkelbraun verwandelte und

ein hochgradiger Prozentsatz von Glycerin eine vollkommen schwarze Färbung erzeugte.

Nach Verlauf eines gewissen Zeitraumes nahm die mit Glycerin versetzte Fleischbrühe auch eine schwärzliche Färbung an.

Die Kulturen zeigten gleiche Merkmale und identisches Pigment, gleichviel ob sie an der Oberfläche oder am Boden der Erlenmeyerschen Kölbchen oder der Probecylinder gewachsen waren. Ich habe mehrere Bakterien, insbesondere chromogene, und zwar den B. prodigiosus, die Sarcina auranthiaca und den B. pyocyaneus untersucht und mehrere andere chromogene Bakterien aus dem Wasser isoliert, um zu sehen, ob den verschiedenen Nährböden beigemengtes Glycerin das von mir bei Streptothrix wahrgenommene Phänomen wiederholen würde, aber ich habe es nie in solchen Bakterien beobachtet.

Litteratur.

Gessard, G., Sur la fonction fluorescigène des microbes. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1892. p. 801.)

Cathelinau, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1896. p. 228.

Lepierre, E., Recherches sur la fonction fluorescigène des microbes. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1895. p. 643.)

Cimmino, R., Di un nuovo bacillo cromogeno. (Annali d'Igiene sperimentale. 1899. Fasc. 2.)

Gorini, Ueber die schwarzen pigmentbildenden Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XX. p. 94.)

Charrin et Roger, Les modifications qu'on peut provoquer dans les fonctions d'un microbe chromogène. (Soc. de biol. 1885. Nov. 4.)

Die Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes.

[Aus der Abteilung für allgemeine Pathologie des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin.]

Von Dr. **W. N. Klimenko,** St. Petersburg.

Obgleich der Bacillus faecalis alcaligenes ein Mikroorganismus ist, der in vieler Hinsicht dem Typhusbacillus gleicht, hat er doch bis jetzt die Aufmerksamkeit der Untersucher nur in geringem Grade auf sich gezogen. Er verdient Beachtung, weil er sich zuweilen in großen Quantitäten in den Faeces von Kranken findet, die den Verdacht auf Unterleibstyphus erregen oder an Unterleibstyphus leiden [Petruschky (1), F. Neufeld (2)].

Die Literatur über ihn ist nicht groß.

Der Bac. faecalis alcaligenes ist zum ersten Male im Jahre 1889 von Petruschky (3) in verdorbenem Bier gefunden worden, doch eine Beschreibung des Bacillus gab Petruschky damals nicht.

Erst im Jahre 1896 charakterisiert Petruschky den genannten Bacillus recht ausführlich: Der Bac. faecalis alcaligenes ist nach Petruschky (1) ein Stäbchen mittlerer Länge und Dicke, seine Enden sind abgerundet. Er ist sehr beweglich. Seine zahlreichen Geißeln sind über die ganze Oberfläche verbreitet (Färbung nach Loeffler). Nach Gram färbt er sich nicht. Auf Gelatineplatten bildet er Kolonieen, die mit den Kolonieen des Typhusbacillus identisch sind. Milch koagu-

liert er nicht. Auf Zucker enthaltenden Nährböden bildet er kein Gas. Indol erzeugt er nicht. Wenn er sich auf Petruschkys Nährboden entwickelt, so trübt er ihn und bildet in spätestens 48 Stunden Alkali. Auf Kartoffeln wächst er in Gestalt eines dicken, glänzenden Belags; die Kartoffeln nehmen dabei eine braune Farbe an. Die Reaktion Pfeiffers mit Typhusserum gibt der Bacillus faecalis alcaligenes nicht. Den Versuchstieren ist er wenig gefährlich. Die Frage, ob der Bacillus eine Bedeutung als Krankheitserreger bei Menschen hat, läßt der Verfasser offen.

Im Jahre 1902 erwähnte Petruschky (4) in einer Arbeit, die speziell der Behandlung des Unterleibstyphus gewidmet war, daß er einmal eine Reinkultur des Bac. faecalis alcaligenes aus 6, nach Neufelds Verfahren bearbeiteten Roseolen eines Typhuskranken isoliert habe.

Fischer (5) und Neufeld (2) kultivierten je einmal dieses Stäbchen aus Leichen; der erste eine Reinkultur aus allen inneren Organen eines tuberkulösen Kindes, das an einer Komplikation mit Lungenentzündung gestorben war, der zweite in fast völliger Reinkultur aus dem flüssigen Inhalt des stark entzündeten Dünndarms einer Person, die an einer choleraartigen Erkrankung verstarb. Dagegen ist der Bacillus, der von Burdach (6) in einem Falle aus dem Blute und den Faeces eines Kranken isoliert und für den Bac. faecalis alcaligenes gehalten worden war, durchaus nicht mit dieser Gruppe identisch und gehört zu der damals (1902) noch unbekannten Gruppe der Bac. paratyphosi.

Auf Grund dieser spärlichen Tatsachen läßt sich vermuten, daß in Ausnahmefällen der Bac. faecalis alcaligenes eine gewisse Bedeutung als Krankheitserreger in der Pathologie des Menschen haben könnte.

Neufeld (7) fügt in seiner Monographie über den Unterleibstyphus in dem Sammelwerk von Kolle und Wassermann, indem er den Bac. faecalis alcaligenes charakterisiert, seinerseits noch hinzu, daß das beschriebene Stäbchen 1) den roten Neutralagar Rothbergers nicht entfärbt, 2) daß es auf dem Nährboden von Barsiekow mit Milch- und Weintraubenzucker Alkali erzeugt und 3) daß es auf Maassens normalem Nährboden wächst, indem es ihn trübt, während der Typhusbacillus denselben vollständig klar läßt.

Im Jahre 1904 teilte Altschüller (8) mit, daß es ihm gelungen wäre: 1) eine Kultur des Typhusbacillus in den Bac. faecalis alcaligenes zu verwandeln und 2) umgekehrt eine Kultur des Bac. faecalis alcaligenes so zu verändern, daß sie alle Eigenschaften des Typhusbacillus annahm.

Doebert (9) ließ im Jahre 1905, um die Mitteilung Altschüllers zu kontrollieren, den Bac. faecalis alcaligenes den Organismus (Bauchhöhle) eines Meerschweinchens passieren. Eine von seinen Kulturen veränderte sich dabei so sehr, daß sie in allen ihren Eigenschaften vollkommen identisch mit dem typischen Typhusbacillus wurde. An den anderen Kulturen des Bac. faecalis alcaligenes gingen solche Wandlungen nicht vor sich.

Die Kontrolluntersuchungen von Konradi (10) und H. Boit (11) ergaben, daß Altschüller mit unreinen Kulturen gearbeitet hatte. Berghaus (12) bewies seinerseits, daß die Kultur des Bac. faecalis alcaligenes, die sich bei Doebert in eine Typhuskultur verwandelt

hatte, verunreinigt war und ein Gemisch des Bac. faecalis alcaligenes und des Typhusbacillus darstellte.

Trommsdorff (13), der die Versuche Doeberts mit unzweifelhaft reinen Kulturen des Bac. faecalis alcaligenes wiederholte, konnte die von dem letzteren gewonnenen Resultate nicht bestätigen. Trommsdorff kam auf Grund der Agglutinationsreaktion zu dem Schluß, daß Doebert in einem recht hatte, und zwar darin, daß eine Gruppe Bac. faecalis alcaligenes wirklich existierte. Zu dieser Schlußfolgerung kommt auch Piorkowski (14), indem er sie durch den ungleichen Wuchs einiger Repräsentanten des Bac. faecalis alcaligenes auf seinem Nährboden — Uringelatine — begründet.

Nachdem Berghaus (15) festgestellt hatte, daß eine der Kulturen des Bac. faecalis alcaligenes verunreinigt war, und sich von der Richtigkeit der Doebertschen Schlußfolgerung, daß auf Grund der Agglutinationsreaktion die Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes existiere, überzeugt hatte, unternahm er ein ausführlicheres Studium dieser Gruppe. Zu diesem Zwecke suchte der Verfasser sich eine möglichst große Anzahl von Repräsentanten dieser Gruppe zu verschaffen. Dank der Liebenswürdigkeit verschiedener Laboratorien hatte der Autor 13 Kulturen zu seiner Verfügung, bearbeitete aber nur 7, da einige von den Kulturen sich ihrem Ursprung nach als identisch erwiesen.

Es wird hier am Platze sein, die folgende Tatsache zu erörtern: Berghaus fand mehrfach, daß die ihm als vollkommen rein zugestellten Kulturen des Bac. faecalis alcaligenes es in Wirklichkeit nicht waren, sondern eine Mischung des Bac. faecalis alcaligenes und des Typhusbacillus darstellten. Der Verfasser bestätigt im allgemeinen die von Petruschky gegebene Charakteristik des Bac. faecalis alcaligenes und unterscheidet sich nur von ihm in der Beschreibung der Verteilung der Geißeln bei dem genannten Stäbchen. Petruschky erklärt den Bacillus für einen peritrichen, während der Verfasser meint, er habe nur je eine oder zwei Geißeln an dem Ende seines Körpers, und in seltenen Fällen (nur bei einer von seinen Kulturen) je ein Bündel Geißeln. Außerdem schreibt der Verfasser, daß der Bac. faecalis alcaligenes salpetersaure Salze in salpetrige verwandelt, daß er fraglos ein Aërobe ist, und daß er auf den Nährböden von Conradi-Drigalski, auf dem Fuchsinagar von Endo und auf Lentz- und Tietz-Agar mit Malachitgrün sehr ähnlich wächst wie der Typhusbacillus. Auf Grund seiner wenig zahlreichen Versuche auf Tieren hält Berghaus ihn für einen reinen Saprophyten und identifiziert ihn mit dem Bac. fluorescens non liquefaciens = fluorescens putidus Flügge, der nur die Fähigkeit verloren, fluoreszierendes Pigment hervorzubringen.

Da ich es mir zur Aufgabe gestellt hatte, den Bac. faecalis alcaligenes näher kennen zu lernen, so bemühte ich mich, vor allen Dingen mir eine möglichst große Anzahl von Repräsentanten des genannten Bacillus, möglichst verschiedenen Ursprungs, zu verschaffen. Dieses gelang mir bis zu einem gewissen Grade, dank der liebenswürdigen Zusendung von Kulturen verschiedener russischer und deutscher Laboratorien. Für meine Arbeit standen mir folgende Kulturen zur Verfügung:

Tabelle I.

No.	Durch wen habe ich die Kultur bekommen?	Aus welchem Laboratorium oder Institut?	Benennung, unter welcher die Kultur in der Arbeit erwähnt wird.	Woraus war die Kultur gezüchtet?
1	Vom Vorstand des Pestlaboratoriums des kaiserlichen Instituts der experimentellen Medizin Dr. N. M. Berestnew.	Aus dem bakteriologischen Institut der Universität Moskau.	Moskau.	Die Herkunft ist unbekannt.
2	Von demselben.	Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.	Ficker.	Ihre Herkunft ist mir unbekannt.
3	Von Prof. Petruschky.	Aus dem Laboratorium der Stadt Danzig.	Petruschky I.	Aus Stuhlausleerung eines Typhuskranken.
4	Von demselben.	Idem.	Petruschky II.	Aus Stuhlausleerung.
5	Von demselben.	Idem.	Petruschky III.	Aus Urin.
6	Von Dozent Král.	Aus Králs Laboratorium.	Král.	Ihre Herkunft ist mir unbekannt.
7	Von Prof. Drigalski.	Aus dem Laboratorium des Militärlazaretts der Stadt Kassel.	Drigalski I.	Idem.
8	Von demselben.	Idem.	Drigalski II.	Idem.
9	Von Prof. Knauf.	Aus dem hygienischen Instisut der Universität Heidelberg.	Heidelberg I.	Aus Stuhlentleerung eines Typhuskranken.
10	Von demselben.	Idem.	Heidelberg II.	Aus Urin.
11	Von Prof. Flügge.	Aus dem hygienischen Institut der Universität Breslau.	Breslau.	Ihre Herkunft ist mir unbekannt.
12	Von Dr. Piorkowski.	Aus Piorkowskis Laboratorium.	Piorkowski I.	Idem.
13	Von demselben.	Idem.	Piorkowski II.	Idem.
14	Vom Assistenten des hygienischen Instituts der Universität Marburg.	Aus dem hygienischen Institut der Universität Marburg.	Marburg I.	Idem.
15	Von demselben.	Idem.	Marburg II.	Idem.
16	Gezüchtet von mir selbst.	—	Alc. 16.	Aus dem Leitungswasser des Marinekorps in St. Petersburg.
17	do.	—	Alc. 17.	
18	do.	—	Alc. 18.	
19	do.	—	Alc. 19.	
20	do.	—	Alc. 20.	
21	do.	—	Alc. 21.	
22	do.	—	Alc. 22.	

Außerdem wurden die ganze Zeit vergleichende Untersuchungen des Bac. fluorescens non liquefaciens und des Bac. fluorescens putidus Flügge angestellt, die ich aus dem kaiserlichen Institut für experimentelle Medizin erhalten hatte.

Aus allen oben angeführten Kulturen wurden gleichzeitig Gelatineplatten angelegt und Ueberimpfungen mit Hilfe des Spatels Conradi-Drigalski auf dem Conradi-Drigalskischen Nährboden und auf leicht alkalischem Agar mit 1-proz. Mannit und Lackmustinktur vorgenommen. Diese vorhergehende Prüfung überzeugte mich einerseits von der vollkommenen Reinheit der Kulturen und andererseits davon, daß dieselben unter sich nicht identisch waren. Die Kulturen von Piorkowski I und II und Marburg I und II bildeten auf der Gelatine ein grünes

fluoreszierendes Pigment, wie der Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge; Heidelberg II rief auf Agar mit Mannit Säure hervor. Král, Moskau, Piorkowski I und II, Marburg I und II entwickelten sich überhaupt nicht auf Mannitagar, und Piorkowski II ebensowenig auf dem Nährboden von Conradi-Drigalski. Von allen Gelatineplatten der untersuchten Kulturen wurden diejenigen Kolonieen, von denen man bei mikroskopischer Untersuchung annehmen konnte, daß sie sich aus einem Stäbchen entwickelt hatten, auf Bouillon übergeimpft.

Von diesen ersten Bouillonkulturen ausgehend, begann ich denn meine Untersuchungen.

Nach der äußeren Form der Bakterien teilen sich alle untersuchten Kulturen in zwei Gruppen: In Kulturen aus kurzen dicklichen Stäbchen mit abgerundeten Enden und in Kulturen aus feinen Bacillen mittlerer Größe, deren Enden auch abgerundet sind. Zu der ersten Gruppe gehören die Kulturen von Král, Breslau und Heidelberg II, zu der zweiten alle anderen. Die Bakterien der ersten Gruppe liegen alle einzeln, selten zwei zusammen, sie bilden niemals Fäden, die zweite Gruppe dagegen bildet sehr oft mehr oder weniger lange Fäden.

Die allgemein gebrauchten Anilinfarben färben die untersuchten Stäbchen sehr gut, nach Grams Verfahren lassen sie sich nicht färben; sie sind nicht säurebeständig. Bei allen untersuchten Bacillen beobachtete man bei der Färbung in größeren und kleineren Quantitäten Vakuolen und Polfärbung. Bei Anwendung von Loefflers Methylenblau (Grübler) und Giemsas Mischung (Grübler) gelang es immer, bei allen untersuchten Stäbchen metachromatische (himbeerfarbene) Körperchen zu konstatieren; in einigen Fällen fast bei jeder einzelnen Bakterie, in anderen Fällen nur bei einzelnen seltenen Exemplaren. Die Zahl der Körperchen schwankte bei einem Stäbchen zwischen 1 und 3. Die metachromatischen Körperchen lagen größtenteils im Innern des Bacillenkörpers, zuweilen befanden sie sich aber auch außerhalb desselben. Zuweilen hatten die Körperchen einen größeren Durchmesser als der Körper des Bacillus und ragten dann aus demselben hervor; die Bakterien erinnerten dabei an eine Spindel oder an eine Keule, je nach dem Platz, den das metachromatische Körperchen einnahm.

Bei einer Färbung nach Neissers Verfahren zum Nachweis Babes-Ernstscher Körper gelang es, bei allen untersuchten Mikroorganismen diese Körper festzustellen, teils bei einer großen Menge von Einzelwesen, teils nur bei wenigen seltenen Exemplaren.

Bei Anwendung aller 3 Färbungsverfahren an Präparaten ein und derselben Kultur konnte man konstatieren, daß absolut kein Parallelismus in der Anzahl der auf diese Weise gefärbten Körperchen existierte. Angesichts des hier Dargelegten ist es klar, daß für die Differentialdiagnose die oben beschriebenen Körperchen keine Rolle spielen. Sporen bildet keines von den Stäbchen.

Alle beschriebenen Bacillen sind zweifellos beweglich; manche bewegen sich sehr schnell, andere langsamer. Nur die Kulturen von Breslau und Heidelberg II sind Peritrichen, bei allen anderen liegen die Geißeln an beiden Enden der Stäbchen in einer Anzahl von 2—4—6. Eine Ausnahme hiervon bilden einerseits die Kulturen von Piorkowski I und II und Marburg I und II, und andererseits Drigalski I; bei den ersteren erreicht die Zahl der Geißeln am Ende der Stäbchen 9 bis 10, bei den letzteren findet sich je nur eine. Man hat mehrfach Fäden

beobachtet mit ganzen Büscheln von Geißeln an den Stellen, wo die einzelnen Bakterien, die diesen Faden bilden, miteinander verbunden sind. Die Geißeln habe ich ausschließlich nach dem Verfahren Zettnows gefärbt. Alles was bis jetzt hinsichtlich der Morphologie der genannten Bakterien gesagt ist, bezieht sich vollkommen auch auf den Bac. fluorescens non liquefaciens und den Bac. fluorescens putidus Flügge. Die Geißeln liegen bei ihnen an den Enden der Stäbchen in einer Anzahl von 2—4—5.

Die Kulturen von Heidelberg II und Breslau sind fakultative Anaëroben, die übrigen hingegen, einschließlich des Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge, sind obligate Aëroben.

Die letzten zwei Mikroorganismen wachsen fast gar nicht bei +36° bis 37° C; die beste Temperatur für ihre Entwickelung ist +24° bis 26° C. Das Temperaturoptimum für Piorkowski I und II, Marburg I und II und Petruschky III ist +26° C. Alle übrigen beschriebenen Bakterien entwickeln sich gut in den Grenzen von +24° C bis 36° bis 37° C.

Grünes fluoreszierendes Pigment bilden außer dem Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge Piorkowski I und II und Marburg I und II. Petruschky III bildet auf Schrägagar, auf Schräggelatine und Kartoffeln ein gelbes Pigment.

Auf Gelatineplatten werden die Kolonieen bei +22° C am 3. Tage dem unbewaffneten Auge sichtbar und erscheinen in diesem Moment in folgender Gestalt: Die tiefen Kolonieen aller beschriebenen Stäbchen als weiße undurchsichtige Punkte, die Oberflächenkolonieen in Gestalt von glänzenden, halbdurchsichtigen Platten von weißlich-grauer Farbe. Ihre Form ist zuweilen eine runde, zuweilen an den Rändern mehr oder weniger gezackt. Diese Kolonieen sind flach und treten aus der Oberfläche der Gelatine nur wenig hervor. Der Bacillus fluorescens putidus Flügge, Piorkowski I und II, Marburg I und II und Breslau sind nach der makroskopischen Gestalt sowohl ihrer tiefen als ihrer oberflächlichen Kolonieen dem Typhusbacillus vollkommen ähnlich. Am 3. bis 4. Tage gewinnen die Oberflächenkolonieen der 5 ersten angeführten Mikroorganismen eine grüne Fluoreszenz.

Das Aussehen der Kolonieen des Bac. fluorescens non liquefaciens und der anderen beschriebenen Bakterien ist am 3. Tage unter dem Mikroskop folgendes: Die Tiefenkolonieen haben eine runde oder ovale Form, sind kleinkörnig, von hellbrauner Farbe; die Oberfläche dagegen erscheint in zweierlei Gestalt, mit einer kleinen Anzahl von Adern und ohne dieselben. Der zentrale Teil dieser beiden Arten von Kolonieen ist kleinkörnig, von hellbrauner Farbe, ihre Ränder sind gleichförmig (homogen) farblos. Am 3. bis 4. Tage werden die oberflächlichen Kolonieen des Bac. fluorescens non liquefaciens grünlich und Petruschky III gelblich.

Die Kolonieen auf Agarplatten werden bei +36° bis 37° C nach 16—18 Stunden dem unbewaffneten Auge sichtbar. Die Tiefenkolonieen sind mit denselben auf Gelatineplatten identisch; von den oberflächlichen kann man bei einer Betrachtung mit dem unbewaffneten Auge dasselbe sagen. Unter dem Mikroskop sieht man an ihnen keine Adern; der zentrale Teil ist kleinkörnig, von hellbrauner Farbe, die Ränder sind einförmig, farblos. Eine bemerkbare Quantität von Pigment wird von keiner der Bakterien in diesem Zeitraume gebildet. Agarplatten des

Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge wurden in einen Thermostaten bei +24° bis 26° C gestellt, weil, wie oben bemerkt, die genannten Mikroorganismen sich bei +36° bis 37° C kaum entwickeln. Auf Agar werden sowohl die Tiefen- wie auch die Oberflächenkolonieen am 3. Tage dem unbewaffneten Auge sichtbar. Die einen und die anderen sind den Agarkolonieen aller anderen untersuchten Mikroorganismen vollkommen gleich, mit dem Unterschiede nur, daß die Oberflächenkolonieen des Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge eine schwach grünliche Farbe zeigen.

Auf den verschiedenen Nährböden wachsen die untersuchten Bakterien folgenderweise:

Der Deutlichkeit halber bemerke ich hier gleich, daß die Kulturen des Bac. fluorescens non liquefaciens und des Bac. fluorescens putidus Flügge immer in einem kalten Thermostaten gezüchtet wurden (+24° bis 26° C), während die anderen Kulturen, selbstredend mit Ausnahme der Gelatinekulturen, in einem warmen wuchsen (+36° bis 37° C).

Bouillon-Pepton wird von allen mehr oder weniger stark getrübt, und auf seiner Oberfläche bilden fast alle, mit Ausnahme von Heidelberg II, ein teils leicht, teils schwer zerreißbares Häutchen. In der Bouillonkultur von Heidelberg II wurde die Bildung eines Häutchens nie beobachtet. Nach 1, 2 oder 3 Tagen bildet sich in Bouillonkulturen aller untersuchten Mikroorganismen in größeren und kleineren Mengen ein schleimiger Bodensatz. Mit der Zeit (nach 1, 2, 3 Wochen und mehr) wird die Reaktion der Bouillon, in der sich die untersuchten Mikroorganismen entwickeln, immer mehr und mehr alkalisch; die Bouillon fängt an deutlich alkalisch sowohl auf Lackmus als auf Phenolphtalein zu reagieren. Grünes fluoreszierendes Pigment bilden in der Bouillon außer dem Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge auch Piorkowski I und II, Marburg I und II. Alle anderen untersuchten Bakterien bildeten kein Pigment in den Bouillonkulturen.

Das Wachstum im Stichagar erinnert sehr an den Typhusbacillus. Breslau wächst wie der gewöhnliche Darmbacillus (Bac. coli comm.). Piorkowski I und II und Marburg I und II bilden ein fluoreszierendes grünes Pigment, welches in den Nährböden diffundiert, wie bei dem Bac. fluorescens non liquefaciens und dem Bac. fluorescens putidus Flügge. Bei Petruschky III ist das Häutchen auf der Agaroberfläche von gelblicher Farbe, die Kulturen wachsen längs des Stiches in Gestalt eines weißen dünnen Fadens.

Auf schrägem Agar wachsen Piorkowski I und II, Marburg I und II, Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge gleicherweise in Gestalt eines glänzenden Belags von grünlicher Farbe. Dieser Belag hat membranartigen Bau. Er läßt sich leicht mit einer Platinanadel von der Oberfläche des Agars entfernen. Das Kondensationswasser ist trübe. Auf seiner Oberfläche bildet sich immer ein ziemlich festes Häutchen von grünlicher Farbe. Alle oben genannten Kulturen bilden fortwährend Schleim, zuweilen in großer Menge. Das Pigment, welches von den Kulturen entwickelt wird, diffundiert in die Agarsubstanz. In älteren Kulturen (d. h. in solchen, die 4, 5 und mehr Tage alt sind) beobachtet man fast immer die Bildung von nadelförmigen Kristallen, sowohl in dem Bakterienbelag selbst, als

auch in der dicht an letzterem gelegenen Fläche des Agars. Die chemische Zusammensetzung der Kristalle wurde nicht festgestellt. Petruschky III wächst auf schrägem Agar in Gestalt eines ziegenlederartigen Belags von gelblicher Farbe; der Belag hat keinen membranartigen Bau. Das Kondensationswasser ist trüb; das Häutchen auf seiner Oberfläche ist sehr schwach entwickelt. Das Pigment diffundiert nicht in den Nährboden. Kristalle werden von der Kultur nicht gebildet. Alle übrigen untersuchten Mikroorganismen bilden auf schrägem Agar einen ziegenlederartigen, schmutzigen Belag von grau-weißer Farbe. Das Kondensationswasser wird trübe. Auf seiner Oberfläche bildet sich fast immer ein leicht zerreißbares Häutchen von weißer Farbe. Die Bildung von Kristallen in den Nährböden konnte nicht nachgewiesen werden.

In Gelatinestichkulturen wachsen Breslau und Král wie der gewöhnliche Darmbacillus (Bac. coli comm.), Alcaligenes 16 und 17 wie der Typhusbacillus; Bac. fluorescens non liquefaciens, Bac. fluorescens putidus Flügge, Piorkowski I und II und Marburg I und II bilden auf der Oberfläche der Gelatine ein glänzendes, hellgrünes Häutchen und längs des Stiches einen feinen Faden von weiß-grünlicher Farbe. Das Pigment diffundiert in die Nährbodensubstanz. Petruschky III bildet auf der Oberfläche der Gelatine ein glänzendes Häutchen von hellgelber Farbe. Längs des Stiches wächst er in Gestalt eines ziemlich dicken weißlichen Fadens. Das Pigment von Petruschky III diffundiert nicht in den Nährboden. Alle anderen Kulturen nehmen je nach dem Charakter ihres Wachstums im Gelatinestich die Mitte ein zwischen dem Typhusbacillus und dem gewöhnlichen Darmbacillus (Bac. coli comm.). Alle untersuchten Mikroorganismen verflüssigen die Gelatine nicht. Alle Kulturen verblieben mit Gummikappen bedeckt 3 Monate in einem kalten Thermostaten.

Das Wachstum aller untersuchten Mikroorganismen in der Gelatinestrichkultur ist dem Wachstum der Strichkultur auf Agar ähnlich.

Auf Kartoffeln wachsen die beschriebenen Stäbchen in Gestalt eines glänzenden, schmierigen Belags. Das Wasser auf dem Boden der Reagenzgläser ist trübe. Auf seiner Oberfläche bildet sich ein feines, leicht zerreißbares Häutchen. Die Farbe des Belags und des Häutchens ist bei Breslau und Petruschky III gelblich, bei dem Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge bräunlich-gelb und bei allen anderen Kulturen hellbraun.

Die Milch wird unter dem Einfluß des Wachsens der untersuchten Bacillen alkalisch. Der Grad der Alkaleszenz ist nicht bei allen Kulturen gleich. Am wenigsten Alkali bildet der Bac. fluorescens non liquefaciens und Heidelberg II. Unter dem Einfluß der Bildung von Alkali wird die Milch immer durchsichtiger und bekommt eine gelblichbraune, eine braun-gelbe und selten nur eine blaß-gelbe Farbe mit einer grauen Schattierung. Auf dem Boden der Reagenzgläser bildet sich ein unbedeutender Niederschlag. Die ersten Anzeichen des Durchsichtigwerdens der Milch treten nicht früher als am 8. bis 10. Tage des Verweilens der Kulturen im Thermostaten ein. Ganz durchsichtig wird die Milch erst nach einem Monat und in manchen Fällen 3 Monate nach der Impfung der Mikroorganismen. Heidelberg II und Bac. fluorescens non liquefaciens verändern sogar nach 3 Monaten das Aussehen der Milch fast gar nicht. Keiner der untersuchten Mikroorganismen bildet Pigment darin.

In dem Nährboden von Petruschky wachsen alle beschriebenen

Bacillen, indem sie ihn trüben, auf seiner Oberfläche bilden sie, außer Heidelberg II, ein leicht zerreißbares Häutchen. Was die Veränderung der Reaktion der Nährböden durch die gegebenen Mikroorganismen anbetrifft, so bildet Heidelberg II eine große und Breslau eine unbedeutende Menge von Säure darin aus; alle anderen Bakterien bilden Alkali. Die Versuche mit Petruschkys Nährboden dauerten 10 Tage. Die Veränderung der Reaktion des Nährbodens wurde 24 Stunden nach Impfung der Bakterien bemerkbar.

Der Neutralrotagar Rothbergers, nach Oldekopps (17) Verfahren bereitet, verändert sich durch Kultur Breslau in weniger als 24 Stunden auf folgende Weise: Die rote Farbe des Agars wird gelb und erhält eine grüne Fluoreszenz. Alle anderen Kulturen wirken, wenigstens in den ersten 8—10 Tagen, nicht auf diese Weise auf den Nährboden. Wegen der halbdünnen Konsistenz des Nährbodens wurde dessen Infektion durch das Verrühren der zu überimpfenden Kultur mit einer Platinöse bewerkstelligt. Bei diesem Infektionsverfahren erwies sich ein Unterschied im Wachstum der Bakterien: Heidelberg II und Breslau entwickelten sich, indem sie eine allgemeine Trübung des Nährbodens hervorriefen, während alle anderen untersuchten Bakterien ihn klar ließen, ihr Wachstum ging im letzteren Falle nur in den oberen Schichten des Nährbodens vor sich und war nicht stark. Gleich Heidelberg II wuchsen auf dem genannten Nährboden auch 4 Kontrollkulturen des Typhusbacillus. Bei anhaltendem Wachstum (mindestens 10 Tage) des Typhusbacillus und aller untersuchten Mikroorganismen, außer Breslau, auf neutralrotem, nach Oldekopps Verfahren bereitetem Agar beobachtete man eine allmähliche Veränderung seiner Farbe; von dunkel-kirschrot wird er hell-kirschrot-gelblich ohne Bildung einer grünlichen Fluoreszenz. In ungeimpften Kontrollreagenzgläsern dieses Nährbodens geht keine derartige Veränderung der Farbe vor sich, sogar nach 2—4-monatlichem Verbleiben derselben in warmen und kalten Thermostaten. Die beschriebene Veränderung der Farbe des Nährbodens ging bei allen genannten Mikroorganismen in verschiedenen Zeiträumen vor sich, zuweilen nach 10 Tagen und in manchen Fällen auch 2 Monate nach der Ueberimpfung der Bakterien auf den Nährboden.

Alle genannten Stäbchen entfärben einen mit Methylenblau bereiteten Nährboden, jedoch in verschiedenen Zeiträumen: Einige nach 16 bis 20 Stunden, andere nach 30 Stunden und noch andere nach 48 Stunden. Keines von den Kontrollreagenzgläsern veränderte sogar nach 72 Stunden seine blaue Farbe.

Auf Endos (18) Fuchsinagar wuchsen der Bac. fluorescens non liquefaciens, Bac. fluorescens putidus Flügge, Piorkowski I und II, Marburg I und II, Král, Moskau, Petruschky III und Alcaligenes 16 und 17 in vollkommen gleicher Weise wie die Kontrollimpfungen von 4 Kulturen des Typhusbacillus verschiedenen Ursprungs. Die Kolonieen aller anderen untersuchten Mikroorganismen waren weißlich mit karmesinrotem Stich. Bei der Mehrzahl war dieser Stich sehr unbedeutend (z. B. Petruschky I und II, Drigalski I u. a.), bei der Minderzahl (Ficker, Alcaligenes 18, 19, 20, 21, 22 und Breslau) trat er schärfer hervor. Keine von den beschriebenen Bakterien wuchs auf Endos Agar so wie die Kontrollimpfung des gewöhnlichen typischen Darmbacillus (Bac. coli comm). Die Kolonieen aller untersuchten Mikroorganismen, mit Ausnahme von Bac. fluorescens non liquefaciens, Bac. fluorescens puditus Flügge, Marburg I und

II, Piorkowski I und II und Alcaligenes 16 und 17, waren bedeutend größer als die Kolonieen der Typhusstäbchen. Die geimpften Petrischen Schälchen mit Endos Nährboden wurden 18 Stunden nach Ueberimpfung der Mikroorganismen untersucht.

Auf dem Nährboden Drigalski-Conradi entwickelte sich Piorkowski II überhaupt nicht (8 Versuche). Alle anderen untersuchten Stäbchen wuchsen darauf sehr ähnlich wie die Kontrollimpfungen des Typhusbacillus auf diesem Nährboden. Die Kolonieen einiger von ihnen (Piorkowski I, Marburg I und II, Heidelberg II und Moskau) waren kleiner, die Kolonieen der anderen von gleicher Größe wie die Kolonieen des Typhusbacillus. Die Versuche mit dem Conradi-Drigalskischen Nährboden dauerten 18—20 Stunden.

Es wurde noch ein leicht alkalischer 4-proz. Agar mit 1 Proz. Mannit und Lackmustinktur bereitet. Ich verwandte ihn so wie den Conradi-Drigalskischen Agarnährboden. Král, Moskau, Piorkowski I und II, Marburg I und II entwickelten sich gar nicht darauf, Heidelberg II und der Typhusbacillus bildeten rote, alle anderen blaue Kolonieen. Der Versuch mit diesem Nährboden wurde 4mal wiederholt; die Dauer des Versuches war 2mal 18 Stunden, 1mal 24 Stunden und 1mal 48 Stunden.

Auf dem eiweißfreien Nährboden von Arthur Meyer (19) und demselben Nährboden mit 1 Proz. Asparagin wachsen alle genannten Bakterien in gleicher Weise, nur spärlich. Keins von den Bakterien erzeugte Pigment.

Ameisensaures Natron (W. L. Omelianskys Nährboden [20]) wird von allen genannten Bacillen nur von Breslau zersetzt. Ueber die Zerlegung des ameisensauren Natrons urteilte ich ausschließlich nach der Bildung von Gas und nicht nach dem Eintritt der alkalischen Reaktion auf Phenolphtalein im Nährboden. Die Dauer der Versuche mit Arthur Meyers und W. L. Omelianskys Nährböden war 10 Tage.

Alle untersuchten Bacillen entwickeln sich vorzüglich in Bouillonpepton mit 1 Proz. salpetersauren Natrons. Král und Moskau verändern dabei garnicht das salpetersaure Natron, alle anderen beschriebenen Mikroorganismen hingegen verwandeln es in salpetriges. Die Reaktion auf salpetrigsaure Salze wurde nach 18 Stunden, 24 Stunden, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 und 12 Tagen angestellt. Um die salpetrigsauren Salze zu bestimmen, benutzte ich zwei Reaktionen, die Jodstärkereaktion und die modifizierte Reaktion von Gries (eine Auflösung von Sulfanilsäure mit α-Naphthylamin). Durch dieses letzte Verfahren werden noch nach Schöne (21) salpetrige Salze im Wasser gefunden bei einer Verdünnung von 1 auf 100 Millionen bis 1 auf 1000 Millionen.

Die beschriebenen Stäbchen bilden kein Indol, mit Ausnahme von Breslau, welcher dasselbe schnell und in großen Quantitäten entwickelt. Die Reaktion auf Indol wurde mit 1-, 2-, 4-, 6-, 8-, 10-, 14- und 28-tägigen Kulturen angestellt. Die Anwesenheit von Indol stellte ich mit Hilfe eines in der Bakteriologie sehr gebräuchlichen, von Maassen (22) modifizierten Verfahren (Amylspiritus) fest.

SH_2 wird von allen untersuchten Mikroorganismen gebildet.

Die Fähigkeit der beschriebenen Bakterien, Kohlenstoffverbindungen zu zersetzen, war an einer ganzen Reihe von ihnen erprobt worden. Zu diesem Zwecke wurden Nährböden mit Kohlenstoffverbindungen so bereitet, wie Grimbert (23) es empfiehlt, d. h. 0,5 Proz. Peptonwasser (Pepton Witte) ohne Chlornatron mit 2 Proz. der Kohlenstoffverbindung; zu diesem Nährboden wurde noch Lackmustinktur hinzugefügt. In Ueber-

einstimmung mit Grimbert wurde dieser Nährboden in einem Autoklav bei + 110° C 10 Minuten lang sterilisiert. Dieses Sterilisationsverfahren gab mir gute Resultate. Es wurden folgende Kohlenstoffverbindungen erprobt: Aus der Gruppe des Weintraubenzuckers Glykose, Galaktose (nach Soxhlet), Lävulose; von Pentosen Arabinose; aus der Gruppe des Rohrzuckers Rohrzucker, Milchzucker, Maltose, Raffinose; aus der Gruppe der Cellulose Dextrin und Arabin; von dreiatomigen Alkoholen: Glycerin, von sechsatomigen Mannit und Dulcit. Alle Kohlenstoffverbindungen waren aus der chemischen Fabrik von König aus Leipzig bezogen worden. Den Glycerin hatte ich aus der Fabrik von Sarg (Wien).

Ueber die Spaltung der Kohlenstoffverbindungen urteilte ich nach dem Umschlag der Reaktion des Nährbodens aus einem neutralen oder schwach alkalischen in sauren. Nur in dem mit Weintraubenzucker versetzten Nährboden waren Versuche auf Bildung von Gas durch die Bakterien angestellt worden. Die Versuche mit allen genannten Nährböden wurden auf folgende Weise ausgeführt: Alle geimpften Reagenzgläser sowie zwei sterile Kontrollgläser wurden in Thermostate gestellt. Sie wurden alle Tage untersucht und der Umschlag der Reaktion ihres Inhalts vermerkt. Die Untersuchung wurde am 8., zuweilen erst am 11. Tage eingestellt. Ich impfte immer gleichzeitig je 2 Reagenzgläser der verschiedenen Nährböden mit jedem der untersuchten Bacillen[1]). Die Versuche mit den eben genannten Nährböden wurden zweimal mit denselben Resultaten wiederholt.

In den Nährböden mit Glykose und Galaktose bilden Moskau, Petruschky III, Král, Heidelberg II, Breslau, Piorkowski I und II, Marburg I und II, Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge Säure, d. h. sie zersetzen die genannten Kohlenstoffverbindungen; nur Breslau bildet Gas aus Glykose. Mit Ausnahme der genannten Mikroorganismen spalten alle anderen weder Glykose noch Galaktose; in den mit ihnen bereiteten Nährböden entwickeln die Bakterien Alkali.

Lävulose zersetzen: Petruschky III, Drigalski I, Heidelberg II, Breslau, Piorkowski I und II, Marburg I und II, Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge.

Die anderen Mikroorganismen verwandeln den Nährboden mit Lävulose aus einem neutralen in einen alkalischen.

Petruschky III, Breslau, Piorkowski I und II, Marburg I und II, Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge spalten Arabinose. Die übrigen Bakterien bilden Alkali in diesem Nährboden.

Keiner von den untersuchten Bacillen verändert Rohrzucker, Milchzucker, Raffinose, Arabinose, Dulcit. Alle beschriebenen Bakterien bilden Alkali in den mit den oben genannten Bestandteilen zusammengesetzten Nährböden.

Maltose zersetzen Heidelberg II und Breslau, Dextrin und Mannit spaltet nur Heidelberg II. Alle anderen untersuchten Bakterien bilden Alkali in den Nährböden mit Maltose, Dextrin und Mannit.

Petruschky III, Heidelberg II, Breslau und Alcaligenes 18, 19, 20, 21 und 22 bilden Säure aus Glycerin. Alle anderen unter-

1) Ich halte es für meine Pflicht, hier zu bemerken, daß dieses Impfungsverfahren bei allen Nährböden von Anfang bis zu Ende dieser Arbeit angewendet wurde.

suchten Bakterien bilden, dank ihrer Lebenstätigkeit im Glycerinnährboden, Alkali.

Die saure Reaktion in allen Nährböden mit Kohlenstoffverbindungen machte sich zum Schluß des 1. oder zu Beginn des 2. Tages nach Infektion der Nährböden bemerkbar. Die Verstärkung der anfänglich schwach alkalischen Reaktion oder das Auftreten einer alkalischen Reaktion in neutralen Nährböden wurde im allgemeinen in demselben Zeitraume beobachtet, selten am 3. oder 4. Tage.

Auf diese Weise kommen wir auf Grund des Studiums der morphologischen, kulturellen und biochemischen Eigentümlichkeiten aller beschriebenen Mikroorganismen zu den folgenden Schlüssen: 1) zwei der untersuchten Bakterien, Heidelberg II und Breslau, gehören überhaupt nicht zu der Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes, 2) die übrigen beschriebenen Mikroorganismen zerfallen in 2 große Gruppen und mehrere Untergruppen.

Breslau und Heidelberg II können unter keiner Bedingung zu der Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes gerechnet werden, weil sie beide Peritrichen sind, während der Bac. faecalis alcaligenes, wie oben beschrieben, nur an den Enden seines Körpers Geißeln hat. Außerdem bildet Breslau Indol, zersetzt Weintraubenzucker mit Bildung von Gas, entfärbt den Neutralrotagar Rothbergers wie der gewöhnliche Darmbacillus (B. coli comm.), spaltet ameisensaures Natron, bildet Säure in neutralem Milchserum und im Maltosenährboden, und kann ohne das Hinzutreten von Sauerstoff wachsen. Heidelberg II gehört seinerseits zu den fakultativen Anaëroben, bildet Säure in den Nährböden mit Maltose, Dextrin und Mannit, ebenso wie in dem Nährboden von Petruschky. Alles soeben Dargelegte berechtigt vollkommen dazu, Breslau und Heidelberg II aus der Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes auszuscheiden, zu der sie wahrscheinlich infolge eines zufälligen Mißverständnisses gerechnet wurden.

Der größeren Uebersichtlichkeit halber stelle ich in einer Tabelle alle Merkmale zusammen, die dazu dienen, alle anderen untersuchten Bakterien, außer Breslau und Heidelberg II, in Gruppen zu teilen.

(S. Tabelle II. p. 767.)

Aus Tabelle II ist ersichtlich, daß die untersuchten Bakterien, je nach ihrer Fähigkeit, Pigment zu bilden, in 2 große Gruppen zerfallen. Zur pigmentlosen Gruppe gehört die Mehrzahl der untersuchten Kulturen des Bac. faecalis alcaligenes, Pigment bildet die Minderheit, und zwar: Petruschky III, Piorkowski I und II und Marburg I und II. Mit den 4 letzten Kulturen sind der Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge identisch. Die pigmentbildende Gruppe wird noch dadurch charakterisiert, daß sie die sehr ausgeprägte Fähigkeit besitzt, einen großen Teil der von mir untersuchten Kohlenstoffverbindungen zu spalten. Die Vertreter der pigmentlosen Gruppe besitzen diese letztere Eigenschaft entweder gar nicht oder in sehr beschränktem Maße (Drigalski I, Král, Moskau, Alcaligenes 18, 19, 20, 21, 22).

Diese 2 großen Gruppen zerfallen, wie man sieht, ihrerseits in verschiedene Untergruppen. Diese letzteren werden hauptsächlich dadurch gebildet, daß die untersuchten Mikroorganismen sich auf verschiedene Weise, wie man es deutlich aus Tabelle II ersieht, zu den mit Kohlenstoffverbindungen bereiteten Nährböden verhalten.

Das Studium der beschriebenen Bakterien wäre nicht vollständig,

Tabelle II.

Gruppe.	Unter-gruppe.	Benennung des Bakteriums.	Farbe des Pigments.	Denitrifikation.	Alkalisches Agar mit Mannit.	Nährboden mit Glukose.	Nährboden mit Galaktose.	Nährboden mit Lävulose.	Nährboden mit Arabinose.	Nährboden mit Glycerin.
I. ohne Pigment.	1.	Petruschky I und II. Drigalski II. Heidelberg I. Alcaligenes 16 und 17. Ficker.		Ist.	Wachsen.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.
	2.	Drigalski I.		Ist.	Wachsen.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.
	3.	Moskau. Král.		Nein.	Kein Wachstum.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.
	4.	Alcaligenes 18 und 19, 20, 21, 22.		Ist.	Wachsen.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Alkali.	Erzeugen im Nährboden Säure.
II. mit Pigment.	1.	Petruschky III.	Gelbe.	Ist.	Wächst.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.
	2 a.	Piorkowski I und II. Marburg I und II.	Grüne fluoreszierende.	Nein.	Kein Wachstum.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Alkali.
	b.	Bac. fluorescens non liquefaciens. Bac. fluorescens putidus Flügge.	Grüne fluoreszierende.	Nein.	Wachsen.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Säure.	Erzeugen im Nährboden Alkali.

wenn ich nicht, um sie ausführlicher zu charakterisieren, meine Zuflucht zur Agglutination und zum Tierexperiment genommen hätte.

In der letzten Zeit lassen sich immer lauter und lauter Stimmen vernehmen, die verlangen, daß das Studium jeder Bakterie möglichst vielseitig sei, d. h. daß man jeden Mikroorganismus von seiner morphologischen, kulturellen, biochemischen und biologischen Seite studieren muß [Kolle (24), Kutscher und Meinicke (25)]. Unter dem Einflusse dieser in letzter Zeit deutlich hervortretenden Richtung wandte ich mich den Agglutinationsexperimenten zu, ganz ohne ihnen die letzte entscheidende Bedeutung bei der Klassifizierung der Mikroorganismen beizumessen.

Das Serum zur Agglutinationsreaktion wurde bereitet, indem man die bei + 56° C abgetöteten Kulturen in die Ohrvenen von Kaninchen einführte. Da es wünschenswert war, ein möglichst stark agglutinierendes Serum zu besitzen, so wurden verhältnismäßig große Quantitäten abgetöteter Kulturen in das Blutgefäßsystem von Kaninchen eingeführt. Die Agarkulturen wurden sorgfältig in einem sehr geringen Quantum (0,5 bis 1,5 ccm) einer sterilisierten, physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmt; die hautartigen Auflagerungen wurden dabei sorgfältig verrieben. In das Blutgefäßsystem der Tiere vermied ich mehr als 2 ccm Flüssigkeit einzuführen. In den meisten Fällen betrug das Anfangsquantum des einzuspritzenden Mikroorganismus $^1/_5$ der auf der schrägen Agarfläche gewachsenen Kultur, selten weniger. Je nach 10 Tagen wurde ein verdoppeltes Quantum der Agarkultur eingeführt; immerhin wurden nicht mehr als $2^1/_2$ Schrägagarkulturen injiziert. In der Regel wurden 3 Kulturinjektionen gemacht. Am 8. Tage nach der 3. Injektion machte man mit dem entsprechenden Serum einen vorläufigen Agglutinationsversuch mit einem homologen Mikroorganismus. Wenn die Agglutinationsreaktion bei einer Verdünnung von 1 : 5000 vor sich ging, so wurde das Kaninchen durch Verbluten getötet. Im entgegengesetzten Falle wurde nach 2 Tagen eine neue Injektion gemacht. 8 Tage danach wurde ein neuer Agglutinationsversuch vorgenommen. Mehr als 5 Injektionen wurden keinem Kaninchen gemacht, weil die Einführung einer größeren Menge Bakterien (2—$2^1/_2$ Schrägagar) zuweilen bedrohliche Symptome hervorrief, zuweilen auch 1—2 Tage nach der Injektion den Tod der Tiere verursachte. Im allgemeinen vertrugen die Kaninchen die Injektionen gut.

Das gewonnene Serum war von verschiedener Stärke, das schwächste agglutinierte bei einer Verdünnung, die 1 : 3000 nicht überschritt, das stärkste bei 1 : 120000. Das schwächste Serum verstärken konnte ich nicht, weil ich den Tod des Tieres befürchtete, wenn ich die äußerste Injektionsdosis ($2^1/_2$ Schrägagar) überschritt.

Die Agglutinationsversuche wurden mit allen Seris bei folgender Verdünnung gemacht: 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 60, 1 : 80, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 2500, 1 : 3000, 1 : 4000, 1 : 5000, 1 : 5500, 1 : 6000. Wenn der Titer des Serums höher war als 1 : 6000, so machte man noch weitere Verdünnungen, bis es gelang, die Grenze der Agglutinationsfähigkeit des Serums festzustellen. Als Flüssigkeit zur Verdünnung des Serums diente eine sterilisierte, physiologische Kochsalzlösung. Alle Verdünnungen wurden mittels graduierter Pipetten gemacht.

Die Agglutinationsversuche wurden nach der im Berliner königlichen Institut für Infektionskrankheiten angenommenen Methode ausgeführt [Kolle und Hetsch (26)]. Das Serum verschiedener Verdünnungsstufen und die physiologische Kochsalzlösung wurden in einem Quantum

von 1 ccm in schmale, kleine, sterilisierte Reagenzgläser gegossen. In diesem Quantum Flüssigkeit verrieb man sorgfältig eine Oese 18- oder 20-stündiger, gut gewachsener Schrägagarkultur bis zur Bildung einer vollständig homogenen Trübung. Da die Erfahrung gelehrt hatte, daß ein 2-stündiges Verweilen der Reagenzgläser in einem warmen Thermostaten vollständig genügte, um die Agglutinationsreaktion aller untersuchten Bakterien zu beendigen, so wurden die Reagenzgläser auf die genannte Zeit in einen warmen Thermostaten gestellt. Nach Verlauf dieser Zeit wurden sie mit dem bloßen Auge, in verdächtigen Fällen mit Hilfe einer Lupe untersucht. Bei allen Versuchen wurde zur Kontrolle folgendes gestellt: 1) Reagenzgläser mit allen verschiedenen Verdünnungsstufen des untersuchten Serums mit dem homologen Bacillus, 2) Reagenzgläser mit einer physiologischen Kochsalzlösung mit allen Bakterien, mit denen Versuche gemacht worden waren. Um die Richtigkeit der gewonnenen Resultate zu kontrollieren, wurden die Agglutinationsversuche wiederholt.

Bevor ich zu einer weiteren Darstellung schreite, halte ich es für angemessen, auf eine Abweichung von der soeben geschilderten Methode hinzuweisen, die ich ganz unbeabsichtigt zulassen mußte. Sie besteht darin, daß ich zu meinen Agglutinationsversuchen mit dem Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. fluorescens putidus Flügge immer 4-tägige Schrägagarkulturen dieser Mikroorganismen nahm, weil jüngere Kulturen derselben bei der Verreibung sogar in einer physiologischen Kochsalzlösung Pseudocoagula bildeten. Aeltere Kulturen dieser Mikroorganismen verloren diese, im gegebenen Falle sehr unangenehme Eigenschaft.

Die agglutinierenden Sera wurden mittels Injektionen der Repräsentanten aller Untergruppen der beiden Hauptgruppen bereitet. Der größeren Uebersichtlichkeit wegen habe ich die auf das Serum bezüglichen Tatsachen in Tabelle III zusammengestellt:

Tabelle III.

Gruppe.	Untergruppe.	Name des Bacteriums, welches für Zubereitung des Serums gedient hat.	Titer des Serums.
I. ohne Pigment.	1.	Petruschky I.	1:110000.
		Drigalski II.	1:120000.
		Heidelberg I.	1: 48000.
		Alcaligenes 16.	1: 5500.
		Alcaligenes 17.	1: 55000.
	2.	Drigalski I.	1: 6000.
	3.	Král.	1: 6000.
	4.	Alcaligenes 19.	1: 11000.
II. mit Pigment.	1.	Petruschky III.	1: 5500.
	2 a.	Piorkowski I.	1: 5000.
		Marburg II.	1: 3000.
	b.	Bac. fluorescens non liquefaciens.	1: 6000.
		Bac. fluorescens puditus Flügge.	1: 5000.

Wie aus Tabelle III ersichtlich, ist eine große Zahl von Seris mit Hilfe von Repräsentanten der ersten Unterabteilung der pigmentlosen Gruppe, als der besonders zahlreichen, bereitet worden.

Agglutinationsversuche sind mit jedem der bereiteten Sera immer mit allen 24 untersuchten Mikroorganismen gemacht worden, außerdem noch mit 4 Kulturen des Typhusbacillus verschiedenen Ursprungs.

Die Resultate dieser Kreuzungsagglutinationsversuche sind der größeren Deutlichkeit wegen in einer Tabelle (IV) zusammengeführt:

Tabelle

Gruppe.	Untergruppe.	Name des Bakteriums.	Gruppe ohne				
			1. Untergruppe.				
			Serum Petruschky I Titer 1 : 110000.	Serum Drigalski II Titer 1 : 120000.	Serum Heidelberg I Titer 1 : 48000.	Serum Alcaligenes 16 Titer 1 : 5500.	Serum Alcaligenes 17 Titer 1 : 5500.
ohne Pigment.	1.	Petruschky I.	+ 110 000.	+ 100 000.	+ 48 000.	—	—
		„ II.	+ 10.	—	+ 10.	—	—
		Drigalski II.	+ 110 000.	+ 120 000.	+ 48 000.	—	—
		Heidelberg I.	+ 110 000.	+ 100 000.	+ 48 000.	—	—
		Alcaligenes 16.	+ 10.	—	+ 10.	+ 5500.	—
		„ 17.	—	—	—	—	+ 55 000.
		Ficker.	+ 110 000.	+ 120 000.	+ 48 000.	—	—
	2.	Drigalski I.	—	—	—	—	—
	3.	Moskau.	—	—	—	—	—
		Král.	—	—	+ 10	—	—
	4.	Alcaligenes 18.	+ 100.	+ 100.	+ 100	—	—
		„ 19.	+ 100.	+ 100.	+ 100	—	—
		„ 20.	+ 100.	+ 100.	+ 100	—	—
		„ 21.	+ 1000.	+ 1000.	+ 100	—	—
		„ 22.	+ 100.	+ 100.	+ 100	—	—
mit Pigment.	1.	Petruschky III.	—	—	—	—	—
	2a.	Piorkowski I.	—	—	—	—	—
		„ II.	—	—	—	—	—
		Marburg I.	—	—	—	—	—
		„ II.	—	—	—	—	—
	b.	Bac. fluorescens. non liquefaciens.	—	—	—	—	—
		Bac. fluorescens. putidus Flügge.	—	—	—	—	—
		Breslau.	—	—	—	—	—
		Heidelberg II.	—	—	—	—	+ 20.
		Bac. typhi abd. 1.	—	—	—	—	+ 10.
		„ „ „ 2.	—	—	—	—	—
		„ „ „ 3.	—	—	—	—	+ 20.
		„ „ „ 4.	—	—	—	—	—

Erklärung der Zeichen: + bedeutet der positive Ausgang der Agglutination; — (Minus) der negative Ausgang derselben. Die Ziffern, welche rechts von dem Zeichen + gestellt sind, zeigen den Grad der Verdünnung des Serums, bei welcher die Agglu-

Aus dieser Tabelle IV ist deutlich zu erkennen, daß die Sera der pigmentlosen Gruppe auf die Repräsentanten der Pigmentgruppe überhaupt keine Einwirkung haben. Die Agglutination, welche das Serum Král der pigmentlosen Gruppe bei einer Verdünnung von 1 : 10 bei den Repräsentanten der Pigmentgruppe Marburg I und II hervorruft, hat bei dem hohen Titer des genannten Serums überhaupt keine Bedeutung. Man braucht nur an die Versuche, z. B. Ballners und Sagassers (27), zu denken, welche beweisen, daß die Injektion einer beliebigen Art von Bakterien oder sogar Flimmerepithels in den Tierkörper

die Bildung homologer und sogar heterologer Agglutinationsstoffe zur Folge hat.

IV.

Pigment.			Gruppe mit Pigment.				
2. Untergruppe.	3. Untergruppe.	4. Untergruppe.	1. Untergruppe.	2. Untergruppe.			
				a		b	
Serum Drigalski I Titer 1:6000.	Serum Král Titer 1:6000.	Serum Alcaligenes 19 Titer 1:11 000.	Serum Petruschky III Titer 1:5500.	Serum Piorkowski I Titer 1:5000.	Serum Marburg II Titer 1:3000.	Serum Bac. fluorescens non liquef. Titer 1:6000.	Serum Bac. fluorescens putidus Flügge Titer 1:5000.
—	—	+ 60.	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	+ 500.	—	—	—	—	—
—	—	+ 60.	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	+ 60.	—	—	—	—	—
+ 6000.	—	—	—	—	—	—	—
—	+ 4000.	—	—	—	—	—	—
—	+ 6000.	—	—	—	—	—	—
—	—	+ 10 000.	—	—	—	—	—
—	—	+ 11 000.	—	—	—	—	—
—	—	+ 10 000.	—	—	—	—	—
—	—	+ 11 000.	—	—	—	—	—
—	—	+ 11 000.	—	—	—	—	—
—	—	—	+ 5500.	—	—	—	—
—	—	—	—	+ 5000.	+ 2500.	—	—
—	—	—	—	+ 5000.	+ 3000.	—	—
—	+ 10.	—	—	+ 5000.	+ 3000.	—	—
—	+ 10.	—	—	+ 5000.	+ 3000.	—	—
—	—	—	—	—	—	+ 6000.	—
—	—	—	+ 10.	—	—	+ 40.	+ 5000.
—	—	—	—	—	—	—	+ 20.
—	+ 10.	—	+ 10.	+ 10.	—	—	+ 20.
—	—	—	+ 10.	—	—	+ 10.	+ 10.
—	—	—	+ 10.	—	—	—	—
—	—	—	+ 10.	+ 10.	—	—	+ 20.
—	—	—	+ 10.	—	—	—	+ 10.

tination noch beobachtet war: z. B. + 10 bedeutet: die Reaktion der Agglutination gab noch ein positives Resultat bei der Verdünnung 1 : 10.

Eine sehr große Bedeutung in der Frage der nahen Verwandtschaft zweier Mikroorganismen hat nach den jetzigen Annahmen nur die Tatsache der Agglutination zweier Mikroorganismen verschiedener Herkunft durch ein Serum in einer Verdünnung, die sich der Grenze seines Titres nähert.

Somit hat die erwähnte Einwirkung des Králschen Serums auf Marburg I und II absolut keine Bedeutung für die Frage der Verwandtschaft zwischen der pigmentlosen Gruppe und der Pigmentgruppe. Seinerseits ruft kein Serum der Pigmentgruppe eine Agglutination bei irgend einem Vertreter der pigmentlosen Gruppe hervor.

Was die pigmentlose Gruppe anbetrifft, so kann man sie, wenn man die in der Bakteriologie jetzt angenommenen Ansichten über Agglutination in Erwägung zieht, in eine viel größere Anzahl von Untergruppen teilen, als es in Bezug auf das Verhalten der beschriebenen Bakterien zu den verschiedenen Nährböden geschehen ist.

Die Gegenüberstellung der durch Serumagglutinationsversuche gewonnenen Tatsachen mit den Fakten, die bei dem Studium der genannten Mikroorganismen von ihrer morphologischen, kulturellen und biochemischen Seite festgestellt wurden, bestätigt nicht nur die schon oben angeführten Resultate, sondern gibt uns die Möglichkeit, noch einige Schlußfolgerungen zu ziehen.

Die Resultate der Agglutinationsversuche der Bakterien geben uns einen neuen Beweis, daß Breslau und Heidelberg II nicht zu der Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes gehören

Die Summe aller erhaltenen Ergebnisse veranlaßt uns, meiner Meinung nach, die ganze Pigmentgruppe aus der des Bac. faecalis alcaligenes auszuschließen (siehe Tabelle II und IV). Die Gründe hierfür sind folgende: Eine fortwährende Bildung von Pigment, die Fähigkeit, eine ziemlich große Menge von Kohlenstoffverbindungen zu spalten, die Unfähigkeit der Mehrzahl, mit Ausnahme von Petruschky III, salpetersaure Salze in salpetrige zu verwandeln, und die gegenseitige kreuzweise Unwirksamkeit des Agglutinationsserums der Repräsentanten beider Gruppen. Mir scheint, wir haben ein Recht, die ganze Pigmentgruppe für eine dem Bac. faecalis alcaligenes nahestehende, aber immerhin selbständige Gruppe des Bac. fluorescens non liquefaciens anzuerkennen. Hiervon müßte man noch vielleicht die erste Untergruppe — Petruschky III — ganz ausschließen, auf Grund dessen, daß der genannte Mikroorganismus ein gelbes Pigment bildet, denitrifiziert, Glycerin spaltet und daß das agglutinierende Serum nur auf ihn selbst wirkt.

Ich habe die Pigmentgruppe — die Gruppe des Bac. fluorescens non liquefaciens genannt, weil, wie es sich aus dem oben Gesagten ergibt (siehe Tabelle II), seine Repräsentanten sich, mit Ausnahme von Petruschky III, von dem Bac. fluorescens non liquefaciens nur durch die Fähigkeit unterscheiden, verschieden wirkende Agglutinationsstoffe zu bilden. Bei dem jetzigen Stande unseres Wissens ist die Unfähigkeit sonst in jeder Hinsicht gleicher Mikroorganismen, im Tierkörper gegenseitig wirksame agglutinierende Stoffe zu bilden, durchaus kein Hinderungsgrund, sie derselben Gruppe einzuverleiben. Ein deutliches Beispiel für die soeben angeführte Behauptung bildet die Gruppe des gewöhnlichen Darmbacillus (Bac. coli comm.), bei dem das durch Injektion verschiedener Kulturen des genannten Mikroorganismus gewonnene Serum einige Repräsentanten dieser Gruppe überhaupt nicht agglutiniert, was durchaus nicht hindert, sie für echte gewöhnliche Darmbacillen zu halten [Pfaundler (28) u. A.]. Folglich scheint mir, daß ich den Tatsachen durchaus keine Gewalt antue, wenn ich Piorkowski I und II und Marburg I und II (siehe Tabelle II und IV) zu der Gruppe des Bac. fluorescens non liquefaciens — Bac. fluorescens putidus Flügge zähle.

Die ganze pigmentlose Gruppe (siehe Tabelle II) können wir, scheint mir, zu der Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes rechnen, deren typische Vertreter alle Repräsentanten der ersten Untergruppe sind. Dieser Gruppierung liegen dieselben Erwägungen zu Grunde, welche

anläßlich der Bildung der Gruppe des Bac. fluorescens non liquefaciens geäußert worden waren.

Die gesammelten Tatsachen, scheint mir, verwerfen deutlich genug die oben angeführte Voraussetzung von Berghaus (15), daß der Bac. faecalis alcaligenes nichts anderes ist, als der Bac. fluorescens non liquefaciens, der die Fähigkeit eingebüßt hat, Pigment zu erzeugen. Ich denke, daß, dank der großen Aehnlichkeit beider Bakterien, der Bac. fluorescens non liquefaciens zuweilen für den Bac. faecalis alcaligenes gehalten wird, wofür als Beispiel die Kulturen Piorkowski I und II und Marburg I und II gelten können (s. Tab. II).

Um die Frage zu lösen, ob die untersuchten Bakterien für Tiere Krankheiterreger sind, wurden Versuche sowohl mit Repräsentanten der Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes als auch der des Bac. fluorescens non liquefaciens gemacht. Zu den Experimenten wurden 22 Meerschweinchen im Gewicht von 360—450 g, 50 weiße Mäuse und 8 erwachsene weiße Ratten verwendet. Die Meerschweinchen und die weißen Ratten infizierte ich, indem ich die Kulturen in die Bauchhöhle einführte. Den Mäusen machte ich eine subkutane Injektion. Jedem Meerschweinchen injizierte ich eine 2-tägige Schrägagarkultur, jeder Ratte 2 Oesen und jeder Maus 1 Oese derselben Kultur. An den Meerschweinchen und Mäusen wurden alle Kulturen beider Gruppen versucht. Keines der Meerschweinchen kam um, obgleich viele von ihnen 1 Tag und 2 Tage nach der Injektion krank waren. Die Mäuse kamen aus zufälligen Ursachen um, aber keine von ihnen starb infolge der Einführung der Mikroorganismen. Wenigstens gelang es keinmal, den injizierten Mikroorganismus aus der toten Maus zu züchten. Zu den Versuchen mit Heidelberg II, Petruschky I, II und III verwandte man je eine Ratte. Keine der Ratten ging durch die Injektion dieser Bakterien ein. Vier Ratten wurde der Bac. fluorescens non liquefaciens injiziert. Zwei von ihnen starben im Laufe der ersten 24 Stunden nach der Injektion, die zwei anderen waren krank und wurden gesund. Die Sektion ergab bei den 2 ersten Ratten eine eiterige Bauchfellentzündung. Aus dem Exsudat und dem Blut der gefallenen Ratten gelang es, Reinkulturen des Bac. fluorescens non liquefaciens zu gewinnen. Alle Tiere, an denen Versuche gemacht wurden, beobachtete man mindestens im Laufe von anderthalb Monaten.

Somit erwiesen sich alle untersuchten Bakterien als unschädlich für Meerschweinchen und Mäuse, aber es ist möglich, daß manche von ihnen (z. B. Bac. fluorescens non liquefaciens), in großen Quantitäten injiziert, einen gewissen Einfluß auf weiße Ratten ausüben.

Das Studium der Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes zeigt uns, daß man dieses Stäbchen mit Leichtigkeit von dem Bac. typhi abdominalis unterscheiden kann.

Zu diesem Zwecke genügt es nötigenfalls, das untersuchte Stäbchen auf seine Geißeln hin zu färben: Der Typhusbacillus ist ein Peritrich, und bei dem Bac. faecalis alcaligenes befinden sich die Geißeln nur an den Enden des Bacillenkörpers. Der Unterschied in der Verteilung der Geißeln ist so groß, daß dieser Umstand als vorzügliches Unterscheidungsmerkmal dienen kann. Ein ebenso wertvolles Unterscheidungsmerkmal repräsentiert das ungleiche Verhältnis des Typhusbacillus und des Bac. faecalis alcaligenes zu Petruschkys Nährboden und zu Nährböden mit Mannit; die erste Bakterie bildet Säure darin aus, die zweite Alkali.

Die gegebenen Tatsachen berechtigen uns zu den folgenden Schlüssen:

1) Es existiert in der Natur die Gruppe des Bac. faecalis alcaligenes.

2) Die Gruppe des Bac. fluorescens non liquefaciens ist ihr sehr ähnlich.

3) Beide Gruppen sind Nekrophyten[1]) [Podwyssotzki (29)], soviel man nach den angestellten Versuchen urteilen kann.

4) Die Hauptunterschiede des Typhusbacillus und des Bac. faecalis alcaligenes sind folgende: Der erste ist ein Peritrich und bildet Säure auf dem Nährboden von Petruschky und auf den Nährböden mit Mannit, der zweite hat nur an den Enden seines Körpers Geißeln und bildet auf den genannten Nährböden Alkali.

Denjenigen, die mir Kulturen des Bac. faecalis alcaligenes zugeschickt und dadurch meine Arbeit gefördert haben, spreche ich hiermit meinen herzlichsten Dank aus.

Literatur.

1) Petruschky, Centralbl. f. Bakt. 1896. No. 6/7.
2) Neufeld, F., Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. II. 1903. p. 224.
3) Petruschky, Centralbl. f. Bakt. 1889. No. 23; 1890. No. 1.
4) —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. p. 573.
5) Fischer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXV.
6) Burdach, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. p. 311, 312 u. 334.
7) Neufeld, Op. cit. p. 208—222.
8) Altschüler, E., Münch. med. Wochenschr. 1904, p. 868—870.
9) Doebert, A., Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905. p. 70.
10) Conradi, Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 1827.
11) Boit, Einfache und sichere Identifizierung des Typhusbacillus. Jena 1905. p. 30—36.
12) Berghaus, Hygienische Rundschau. Bd. XV. p. 761.
13) Trommsdorff, Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 1667.
14) Piorkowski, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 437.
15) Berghaus, Hygienische Rundschau. Bd. XV. p. 1185.
16) Neisser, M., nach Friedberger in Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. I. p. 427.
17) Oldekop, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 120.
18) Endo, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 109; und Klinger, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXIV. Heft 1.
19) Meyer, Arthur, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. 1903. p. 15 u. 25.
20) Omelianski, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 1; und Centralblatt f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. No. 22/23.
21) Schöne, Zeitschr. f. analyt. Chem. Jahrg. XXXIII. Heft 2.
22) Maassen, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. IX. p. 403.
23) Grimbert, Archives de parasitologie. Vol. VII. p. 237.
24) Kolle, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. p. 287.
25) Kutscher und Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. p. 301.
26) Kolle und Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie. 1906. p. 100—103.
27) Ballner und v. Sagasser, Arch. f. Hyg. Bd. LI.
28) Pfaundler, M., in Kolle und Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. IV. p. 916—920.
29) Podwyssotzki, W. W., Grundzüge der allgemeinen Pathologie. 4. Aufl. p. 84. (Russisch.)

1) Saprophyten.

Ueber eine Fleischvergiftung durch Paratyphus B.

[Aus dem hygienischen Institut zu Göttingen. Direktor: Prof. Dr. E. v. Esmarch.]

Von Dr. **Albert Fromme,** Assistenten am Untersuchungsamt.

Anfang Oktober vorigen Jahres erkrankten in H. 32 Personen im Verlauf von 2 Tagen unter den Symptomen der akuten Fleischvergiftung. Die sofort angestellten Nachforschungen ergaben, daß sämtliche Erkrankte von demselben Metzger ihr Fleisch bezogen hatten. So war der Weg, auf dem die Untersuchung geführt werden mußte, gewiesen, und die Polizei konnte sofort das übrig gebliebene verdächtige Fleisch beschlagnahmen und so weitere Erkrankungen verhüten. Die Polizeidirektion sandte das Fleisch zur chemischen Untersuchung an die landwirtschaftliche Versuchsstation zu Göttingen, von der aus auf Veranlassung des Kreisarztes in H. das Fleisch an das bakteriologische Untersuchungsamt übersandt wurde.

Wir erhielten das Fleisch 6 Tage, nachdem die ersten Erkrankungen aufgetreten waren, und zwar wurde übersandt: Ein roher Schweineschinken und kleine Ueberreste von gebratenen Schweinekottelettes und und gekochtem Schweinefleisch. Da wir vor Einlauf dieser verdächtigen Fleischproben schon verschiedentlich Gelegenheit hatten, Blut und Ausscheidungen der Erkrankten zu untersuchen, hatten wir durch die einsendenden Aerzte schon erfahren, daß in fast allen Fällen rohes Fleisch in Form von „Gehacktem“ genossen war. Es wurde deshalb nur der Schinken untersucht und auf die Untersuchung des übrigen verzichtet. An den Kottelettes und dem gekochten Fleisch war nichts Auffälliges zu bemerken, der Geruch war normal. Der Schinken dagegen befand sich in einem Zustande vorgeschrittenster Zersetzung, er war 2mal quer durchschnitten bis auf den Knochen, der aber nicht frei lag, sondern durch gelbe Eitermassen verdeckt war. Von hier aus war der Eiter über die Schnittflächen geflossen, so daß auch diese eitrig belegt waren. Die stark vorgeschrittene Fäulnis ließ von einer anatomischen Untersuchung kein Resultat erwarten. Es wurden von dem Eiter nur einige Oesen zur direkten Untersuchung, zur Kultur und zur Impfung von Tieren entnommen.

In dem mikroskopischen Bilde waren fast alle Bakterienarten vertreten, es beherrschten aber das Bild kurze, plumpe Stäbchen, die in Haufen zusammenliegend, meist nicht eigenbeweglich waren, zwischen diesen fanden sich wenige eigenbewegliche Stäbchen. Da die klinischen Symptome auf eine typhusähnliche Erkrankung, also auf eine Fleischvergiftung und nicht auf eine Wurstvergiftung, den sogenannten Botulismus, hinwiesen, da nervöse Störungen im klinischen Bilde fehlten, wurde auf die anaërobe Kultur verzichtet.

Die aërobe Kultur wurde auf gewöhnlichem Agar, auf v. Drigalski-Conradi- und Malachitgrün-Agar unternommen. Die Platten, auch der Malachitgrünagar, waren am nächsten Tage stark bewachsen. Es gelang, vom Drigalski-Conradi-Agar, der etwa zu gleichen Teilen mit roten und blauen, meist mittelgroßen und großen Kolonieen bewachsen war, einen Stamm zu isolieren, der sofort verdächtig erschien,

der Erreger der Vergiftungen zu sein. Wir gingen nämlich so vor, daß wir die verdächtigen blauen Kolonieen in das von der Firma Merck in Darmstadt hergestellte polyvalente Schweinepestserum einrührten, und wir fanden so eine Kolonie, die bei einer 500fachen Verdünnung des Serums sofort agglutiniert wurde. Es waren kurze, plumpe Stäbchen, die sich mit den gebräuchlichen Farben leicht färbten und die im hängenden Tropfen starke Eigenbeweglichkeit zeigten; sie bewegten sich schießend oder purzelnd durch das Gesichtsfeld.

Dieser Stamm zeigte folgende Kultureigenschaften:

Gelatine: Tiefliegende Kolonieen gelbbraun, kugel- oder wetzsteinförmig, oberflächliche: hohe, fette, glänzende Kolonieen. Nie Verflüssigung.

Agar: Große, gelbe, glänzende, opaleszierende Kolonieen.

Drigalski-Conradi-Agar: Große, intensiv blaue, wenig trübe Kolonieen.

Malachitgrünagar: Fette, weiße Kolonieen, den Nährboden bei reichlicher Aussaat schon nach 24 Stunden entfärbend.

Neutralrotagar: Starke Gasbildung, Entfärbung, Fluoreszenz schon nach 20 Stunden.

Lackmusmolke: Nach 24 Stunden Rötung, fast klar, nach 48 Stunden beginnende Bläuung, die immer stärker wurde, so daß die Molke nach 3 Tagen tiefblau erschien, mit weißlicher Häutchenbildung an der Oberfläche.

Milch: Keine Gerinnung, nach 8 Tagen nahm die Milch einen gelben Farbenton an, in der 3. Woche wurde die Milch wie Milchkaffee, etwas durchsichtig und stark alkalisch.

Bouillon: Gleichmäßige Trübung mit reichlichem Bodensatz, auch in älteren Kulturen kein besonderer Geruch.

Kartoffel: Dicker, gelbbrauner Belag.

Indol wurde nicht gebildet.

Es war also gelungen, aus dem verdächtigen Fleisch einen Stamm zu isolieren, der sich kulturell von den bei Paratyphuserkrankungen und bei verschiedenen Fleischvergiftungen beschriebenen Stämmen nicht unterscheiden ließ.

Die kürzlich veröffentlichten umfangreichen Untersuchungen von Kutscher und Meinicke (1) zur Differenzierung der verwandten Bakterien der Fleischvergiftungen, des Paratyphus und des Mäusetyphus haben ergeben, daß man kulturell alle Stämme nicht unterscheiden kann, daß man aber durch die Serodiagnostik und durch die Immunitätsreaktionen die verschiedenen Fleischvergiftungsbakterien in 2 Gruppen einteilen kann, und zwar in dieselben Gruppen, wie sie von de Nobele (2) aufgestellt sind. Als Typus der Gruppe I ist der Stamm Aertryck, bei einer Epidemie im gleichnamigen Orte isoliert, anzusehen, dieser Stamm wird von agglutinierendem Paratyphusserum bis zur Titergrenze beeinflußt. Der typische Vertreter der Gruppe II ist das echte Bact. enteritidis Gärtner, das von agglutinierendem Paratyphusserum fast nicht, dagegen von Typhusserum fast bis zur Titergrenze beeinflußt wird. Als identisch mit dem Typus I ist der Bacillus Paratyphus B aufzufassen.

Die Agglutinationsversuche an unserem Stamm ergaben, daß der Stamm H. von Paratyphus B Serum bis zur Titergrenze, von Typhusserum dagegen fast nicht beeinflußt wurde. Wir haben also einen

Fleischvergiftungsstamm der Gruppe Aertryck oder, was dasselbe ist, einen Bacillus Paratyphus B vor uns.

Denselben Stamm konnten wir auch aus dem Körper der von uns mit je einer Oese des Schinkeneiters geimpften Tiere isolieren.

An ein Meerschweinchen wurden Teile des Schinkens verfüttert (Einschieben in den Mund). Ein Meerschweinchen wurde mit einer Oese des Eiters subkutan geimpft.

Das 1. Meerschweinchen blieb dauernd gesund. Die Infektion von Meerschweinchen mit Paratyphus per os gelingt nur äußerst selten, eine tödliche Infektion per os ist Kutscher und Meinicke nie gelungen. Außerdem können wir nicht wissen, ob in diesem Falle das Meerschweinchen die mit Gewalt eingeschobenen Fleischstücke nicht wieder erbrochen hat.

Das subkutan geimpfte Meerschweinchen zeigte vom 4. Tage an harte Infiltration an der Impfstelle, die eitrig belegt war, und zunehmende Abmagerung. Tod nach 10 Tagen. Sektion: Aus der Impfstelle entleerte sich auf Druck dicker, rahmiger Eiter in großer Menge, die Bauchdecken waren in weitem Umfange infiltriert und schwartig verwachsen, Milz vergrößert, im Darme harter Stuhl. Im Herzblute ließen sich vereinzelt gramnegative Stäbchen nachweisen. Ausstriche von Herzblut, Leber, Milz und Eiter auf Agar und Drigalski-Conradi-Agar. In den Kulturen von Herzblut, Leber und Milz war am nächsten Tage fast Reinkultur des beschriebenen Paratyphus gewachsen, außerdem auf Drigalski-Conradi-Agar wenige rote Kolonieen, die Bacterium coli darstellten. Auch aus dem von der Impfstelle stammenden Eiter ließen sich die beschriebenen Stäbchen isolieren, doch überwogen hier Bacterium coli und andere Arten.

Der Sektionsbefund bei dem Meerschweinchen entspricht den Befunden, die Kutscher und Meinicke an ihrem großen Material bei der Impfung mit Paratyphus gesehen haben, nur fehlen hier die nekrotischen Stellen in der Leber.

Ganz ähnlich verliefen die Tierversuche an Mäusen, doch trat hier eine Komplikation durch das Vorhandensein von 2 für Mäuse pathogenen Bakterien ein. An 2 Mäuse wurden Stücke des Schinkens verfüttert, eine weiße Maus wurde mit einer Oese des Eiters subkutan geimpft.

Die beiden ersten Mäuse zeigten am 2. Tage Krankheitserscheinungen, erholten sich aber wieder und blieben dauernd gesund.

Die subkutan geimpfte Maus wurde am Morgen des 5. Tages tot aufgefunden (wahrscheinlich schon in der Nacht gestorben). Die Sektion ergab nichts Besonderes. Im Herzblute fanden sich sehr spärlich gramnegative Stäbchen von der Form der Paratyphusbacillen, außerdem fast nur in Leukocyten liegend schlanke, grampositive Stäbchen, fast alle Leukocyten waren mit diesen Stäbchen vollgepfropft. Mit einer Oese des Herzblutes wurde eine Maus neugeimpft. Durch Kultur auf Drigalski-Conradi-Agar und Agar von Herzblut, Milz und Leber konnten die Paratyphusbacillen wieder isoliert werden. Die meisten Kolonieen, die auf Drigalski-Conradi-Agar rot wuchsen, stellten Bact. coli dar (vielleicht zum Teil postmortale Einwanderung vom Darm aus). Da die Kolonieen sehr dicht standen, wurden zunächst winzigste Kolonieen übersehen, von denen später die Rede sein wird. Die Maus, die mit dem Herzblute geimpft war, starb am 2. Tage. Im Herzblute fanden sich wiederum zahlreich in den Leukocyten gram-

positive Stäbchen, keine gramnegativen Stäbchen. Die Kultur aus dem Herzblute und den Organen ergab diese Stäbchen in Reinkultur.

Es waren kurze, schlanke Stäbchen, die im hängenden Tropfen starke Eigenbeweglichkeit zeigten. sie bewegten sich meist schießend durch das Gesichtsfeld. In über 48 Stunden alten Kulturen wuchsen sie zu langen Fäden aus. Sie stellten auf Agar winzigste, mit bloßem Auge kaum sichtbare Kolonieen dar, bei schwacher Vergrößerung ungefähr wie Diphtheriekolonieen auf Agar aussehend. Auf Blutserum waren die Kolonieen etwas üppiger, die Kolonieen hatten die Farbe des Nährbodens. Auf der Gelatineplatte waren die tiefliegenden Kolonieen punkt- oder wetzsteinförmig, die oberflächlichen Kolonieen waren flach, ohne scharfe Umgrenzung. Von den Kolonieen gingen feinste Ausläufer in die Umgebung, so daß bei dichter Aussaat der Nährboden wie durch ein feinstes Netzwerk durchzogen erschien. Der Nährboden wurde durch Verdunstung der in geringem Grade verflüssigten Gelatine an der Stelle der Kolonieen eingezogen. Im Gelatinestich wuchsen diese Bakterien in von dem Stichkanal ausgehenden feinsten Büscheln, die nach der Peripherie ausstrahlend den Nährboden bauchförmig trübten. Die Verflüssigung wurde erst nach Wochen in Form eines Verflüssigungstrichters deutlich.

Eine weiße Maus, die mit einer Oese einer Reinkultur dieser Stäbchen geimpft wurde, starb am 3. Tage in sitzender Stellung mit stark gekrümmtem Rücken. Aus dem Herzblut und den Organen ließen sich dieselben Stäbchen in Reinkultur isolieren.

Nach dem mikroskopischen und kulturellen Verhalten, der Pathogenität gegen Mäuse und der mangelnden gegen Meerschweinchen kann kein Zweifel bestehen, daß wir es mit dem Bacillus der Mäuseseptikämie zu tun hatten.

Natürlich mußte auch, da dieser Stamm aus dem Körper eines Schweines isoliert war, daran gedacht werden, daß es sich um Schweinerotlauf handeln könne. Kulturell konnten wir unseren Stamm von dem Schweinerotlaufstamm unserer Sammlung nicht unterscheiden, wohl aber unterschied er sich durch die starke Eigenbeweglichkeit, die dem Schweinerotlauf vollkommen fehlte. Da bei dem Tier keinerlei für eine Erkrankung an Schweinerotlauf sprechende Symptome vorgelegen hatten, ist Schweinerotlauf sicher nicht anzunehmen.

Irgend eine Rolle bei den Erkrankungen in H. dürfen wir dem Mäuseseptikämiebacillus kaum zumessen, besonders, da man annehmen kann, daß die Infektion mit diesem erst sekundär nach dem Beginn der Fäulnis erfolgt ist; ist doch die Entdeckung dieses für Mäuse pathogenen Bacillus Robert Koch (3) durch subkutane Einverleibung von faulendem Fleisch bei Mäusen gelungen. Immerhin beweist der Befund die starke Fäulnis, in der sich der Schinken befand, als wir ihn zur Untersuchung erhielten.

Tierversuche mit der Reinkultur des Paratyphus B:

Subkutane Infektion einer weißen Maus: Tod innerhalb 24 Stunden. Aus dem Herzblut und den Organen ließen sich die Paratyphusbacillen in Reinkultur züchten.

Infektion einer weißen Maus per os mit $^1/_{10}$ 24-stündiger, lebender Bouillonkultur: Tod nach 5 Tagen. Sektion: Die ganze Bauchgegend war blutunterlaufen, aus dem After entleerte sich blutiger Kot, Milz schwarzbraun, vergrößert, aus dem Herzblut und den Organen wurden die Paratyphusbacillen in Reinkultur erhalten.

Eine weiße Maus, die mit einer bei 70° abgetöteten Bouillonkultur gefüttert wurde, blieb dauernd gesund. Die Infektion einer Ratte vom subkutanen Gewebe aus gelang nicht.

Die Bildung von hitzebeständigen Toxinen wurde erst 3 Monate nach der Isolierung des Stammes geprüft. Giftstoffe, die der Erhitzung auf 100° widerstehen, konnten Kutscher und Meinicke an alten Kulturen nicht feststellen, an frisch isolierten Stämmen ist es Vagedes (4), Uhlenhuth (5), Rolly (6) und kürzlich Kutscher (7) gelungen.

I. 7-tägige Bouillonkultur 1 Stunde auf 70° erhitzt, Sterilität durch Kultur geprüft. Eine weiße Maus 0,5 ccm intraperitoneal, ein Meerschweinchen 0,5 ccm intraperitoneal. Beide Tiere machten bald nach der Impfung einen kranken Eindruck, die Maus starb innerhalb 24 Stunden, das Meerschweinchen innerhalb 48 Stunden. Die Sektion ergab nichts Besonderes.

II. 10-tägige Bouillonkultur, 5 Minuten auf 100° erhitzt, Sterilität durch Kultur geprüft. Eine weiße Maus 0,2 ccm intraperitoneal, eine weiße Maus zur Kontrolle 0,2 ccm Bouillon intraperitoneal, ein Meerschweinchen 0,5 ccm intraperitoneal. Die 1. Maus starb unter denselben Krankheitserscheinungen binnen 24 Stunden, das Kontrolltier blieb dauernd gesund. Das Meerschweinehen zeigte am nächsten Tage ein starkes Infiltrat an der Impfstelle, so daß die Möglichkeit der subkutanen Impfung besteht, was die Sektion des nach 14 Tagen unter starker Abmagerung verstorbenen Tieres zu bestätigen scheint: An der Impfstelle ausgedehntes hämorrhagisches Infiltrat mit Verwachsungen.

Wiederholung des Versuchs beim Meerschweinchen: 6-tägige Bouillonkultur, durch 5 Minuten langes Erhitzen auf 100° abgetötet. 1,0 ccm intraperitoneal. Das Tier war bis 6 Tage nach der Impfung ohne Krankheitserscheinungen geblieben.

War es also gelungen, aus dem verdächtigen Fleische einen Stamm zu isolieren, der von den bei verschiedenen Fleischvergiftungen beschriebenen nicht zu unterscheiden war, so fehlte doch noch der Beweis, daß dieser Stamm die Fleischvergiftung hervorgerufen hatte. Durch die Freundlichkeit des Kreisarztes in H. und dreier praktischer Aerzte erhielt ich sowohl eine Beschreibung des klinischen Bildes, als auch Gelegenheit, Blut und Stuhl Erkrankter zu untersuchen.

In allen Fällen wurde das Fleisch roh genossen in Form von Gehacktem. Die Leute hatten sämtlich gehacktes Rindfleisch verlangt, erhielten aber, wie der Metzger zugestand, Rind- und Schweinefleisch gemischt, um dem Fleisch eine schönere Farbe zu geben. Nur in einer Familie erfolgte die Erkrankung auf den Genuß einer von demselben Metzger bezogenen Rindsleber, die in gebratenem Zustande genossen wurde. Da hier bei einer Kranken das Krankheitsbild ein etwas abweichendes war, soll dieser Fall nachher besonders besprochen werden.

Die Krankheitserscheinungen traten im Durchschnitt 12—18 Stunden nach dem Genuß des rohen Fleisches auf, in einem Falle sogar schon nach 1 Stunde. In ganz leichten Fällen bestanden sie nur in vorübergehendem schlechten Befinden mit Erbrechen und Durchfall, einige Erkrankte konnten ihrer Arbeit weiter nachgehen, andere waren nur 2 bis 3 Tage bettlägerig. Fieber bestand meist nur 1—2 Tage lang und hielt sich zwischen 38 und 39°. Aber auch die nur ganz leicht Erkrankten klagten 1—2 Wochen lang über Mattigkeit. In den schwereren Fällen waren die Krankheitserscheinungen in den ersten Tagen sehr heftig: Erbrechen, zeitweise alle paar Minuten, Durchfälle, Leib- und Kopf-

schmerzen, Schwindelgefühl, bei einigen leichte Benommenheit am 1. Tage. Bei mehreren Kranken trat geringe Eiweißausscheidung im Urin auf, bei einer Kranken eine starke hämorrhagische Nephritis.

Etwas anders war das Krankheitsbild bei einer Erkrankten aus der Familie, die Rindsleber in gebratenem Zustande genossen hatte. Während bei den vorher beschriebenen Fällen die Infektionen durch den Genuß des infizierten Fleisches leicht zu erklären sind, kann man hier ungezwungen eine Kontaktinfektion in dem räumlich beschränkten Laden annehmen. Die Familie D. aß am 3. Oktober gebratene Rindsleber, die angeblich in kleine Stücke geschnitten und gut durchgebraten war. Am 5. Oktober wurde die Leber noch einmal aufgewärmt, da die übrigen Familienmitglieder leicht erkrankt waren, aß an diesem Tage nur noch Frau D. davon, sie erkrankte nachmittags mit heftigem Durchfall und Erbrechen schwarzer Massen, wie bei Carcinomkranken. Temperatur zwischen 37 und 38°, es bestand große Schwäche, mühsame Atmung, Puls 120—130, starker Druckschmerz in der Blinddarmgegend, schwarzer Stuhlgang. Am 6. Tage bedrohlicher Kollaps, am 8. Tage Besserung mit leichtem Schweißausbruch, in den ersten Tagen der Rekonvaleszenz mühsame, etwas lallende Sprache. Patientin war über 3 Wochen bettlägerig. Die leichte Erkrankung bei Mann und Sohn — der Mann ging immer seiner Beschäftigung nach, der Sohn setzte nur 2 Tage aus — kann man vielleicht allein durch Aufnahme der durch das Braten nicht geschädigten Toxine erklären. Bei Frau D. dagegen ist es wahrscheinlich, daß sie sich bei der Zubereitung der Leber mit lebenden Bakterien infiziert hat.

Während bei den vorher beschriebenen Krankheitsfällen — im ganzen wurden vom 5. bis zum 11. Krankheitstage 4 Krankenstühle untersucht — eine Züchtung der Bakterien nicht möglich war, gelang es bei Frau D., am 15. Krankheitstage die beschriebenen Paratyphusbacillen im Stuhle nachzuweisen. Die längere Inkubation, der Krankheitsverlauf und das Auftreten der Paratyphusbacillen im Stuhle im Beginn der 3. Krankheitswoche machen hier das Krankheitsbild mehr typhusähnlich.

Kontaktinfektionen sind bei der Epidemie nicht vorgekommen, ein Todesfall war nicht zu verzeichnen.

Eine Erkrankung an Enteritis, die bei 2 Säuglingen auftrat, ist sicher nicht als Kontaktinfektion aufzufassen; es handelte sich um Zwillinge, die eine leicht an Fleischvergiftung erkrankte Mutter an der Brust hatte. Bei beiden trat Enteritis auf, es wurde ein Kind versuchsweise künstlich ernährt, worauf sofort normaler Stuhl eintrat, während bei dem anderen Kinde die Krankheitserscheinungen weiter bestanden. Die Krankheit ist daher als Schädigung durch Stoffwechselprodukte, die mit der Milch abgesondert wurden, aufzufassen.

Auf Agglutinine wurde von 5 Erkrankten Blut untersucht (mikroskopische Tropfenmethode), und zwar bei 2 Patienten 2mal, im Anfang und im Verlauf der Erkrankung. Die Ergebnisse in 3 Fällen sind in folgender Tabelle (p. 781) geordnet.

Während in dem bei Beginn der Erkrankung untersuchten Blut Agglutinine für Paratyphus B nicht nachzuweisen waren, stieg der Titer nach dem 9. bis 11. Krankheitstage bis zu einer Verdünnung von 1:100 bis 1:500. Auffällig ist, daß in beinahe allen Fällen Typhus ebenso hoch, wie ein heterologer Paratyphus B-Stamm und fast ebenso hoch wie der homologe Fleischvergiftungsstamm agglutiniert wurde.

Bei Frau S. M. war der Titer für Typhus sogar etwas höher, wie

Wievielter Krankheitstag	Benutzter Stamm	1/20	1/50	1/100	1/200	1/500	1/1000	
III.	Sammlungsstamm Typhus	—	—	—				Frau B.
III.	Sammlungsst. Paraty. B	—	—					
IX.	Fleischvergiftungsst. Hi.	+++	+++	+++	++	+	—	
IX.	Sammlungsst. Typhus	+++	++	+	—	—	—	
IX.	„ Paraty. A	++	+	—	—	—	—	
IX.	„ Paraty. B	+++	+++	+++	++	+	—	
IV.	Sammlungsst. Typhus	+++	++	±				Frau S. M.
IV.	„ Paraty. A		—					
IV.	„ Paraty. B		—					
IX.	Fleischvergiftungsst. Hi.	+++	+++	+++	+	—	—	
IX.	Sammlungsst. Typhus	+++	+++	+++	++	—	—	
IX.	„ Paraty. A	++	—	—	—	—	—	
IX.	„ Paraty. B	+++	+++	++	—	—	—	
XI.	Fleischvergiftungsst. Hi.	+++	+++	+++	+++	++	—	Frau D.
XI.	Sammlungsst. Typhus	+++	+++	+++	+	—	—	
XI.	„ Paraty. A	++	++	—	—	—	—	
XI.	„ Paraty. B	+++	+++	+++	++	+	—	

für den homologen Stamm. Im Beginn der Erkrankung war in diesem Fall Agglutinationsvermögen für Paratyphus überhaupt noch nicht nachzuweisen, während Typhusbacillen schon bis zur Verdünnung 1:50 deutlich beeinflußt wurden. Die Frau hat ihren Angaben nach Typhus früher nicht überstanden. Paratyphus A wurde in keinem Falle höher, wie 1:50 beeinflußt.

Der Beweisring, daß der beschriebene Paratyphusbacillus die Erkrankungen hervorgerufen hat, konnte also in diesem Falle geschlossen werden: Derselbe Stamm wurde im Fleische selbst nachgewiesen, wir erhielten ihn unter einer großen Anzahl von Keimen wieder durch den Tierversuch, er wurde einmal im Stuhl einer Erkrankten gefunden und es konnte das Auftreten von spezifischen Agglutininen im Blute von Erkrankten nachgewiesen werden.

Es fragt sich nun, auf welche Weise wurde das Fleisch von dem Paratyphus infiziert, und besonders war schon das Tier infiziert oder erfolgte die Infektion erst nach dem Tod des Tieres? Natürlich liegt letztere Annahme sehr nahe bei einem Fleisch, das sich in so starker Zersetzung befand, wie der Schinken, als wir ihn zur Untersuchung erhielten, zumal man die Infektion mit der Mäuseseptikämie sicher als sekundäre annehmen muß. Daß es sich um altes Fleisch handelte, geht auch daraus hervor, daß im hiesigen landwirtschaftlichen Institut Präservesalz nachgewiesen werden konnte. Paratyphus ist in H. nie beobachtet worden, eine Infektion mit Mäusetyphus ist nicht möglich, da in dieser Gegend mit dem Löfflerschen Mäusegift nicht gearbeitet wird. Gegen die Annahme einer sekundären Infektion sprechen die Aussagen des Metzgers, der angab: An dem sonst gesunden Schwein befand sich ein „Geschwür“ an der einen Backe, das nach dem Tode des Tieres entfernt wurde. Später bemerkte er beim Zerlegen des Schinkens ein „Geschwür“, weshalb er diesen im Schlachthofe ablieferte. In der auf dem Schlachthofe geführten Liste war das Schwein als gesund bezeichnet. Es ist aber möglich, daß das „Geschwür“ an der Backe, an das der Metzger sich erinnerte, als nebensächlich nicht vermerkt war.

Es scheint noch vielfach die Ansicht zu bestehen, daß Fleisch mit isolierten Abscessen keinesfalls gesundheitsschädlich sein kann, wie fol-

gender Passus in einer auf Anfrage nach dem Schlachthofbefund erhaltenen Antwort der Schlachthofdirektion beweist: „Der in dem Schinken bei der Zerlegung vorgefundene abgekapselte Absceß kann doch nicht als Ursache der Erkrankung in Frage kommen. Derartige durch eine starke bindegewebige Hülle abgekapselte Abscesse, welche auch bei Kälbern und Rindern zuweilen vorkommen, und erst bei der Zerlegung der Tiere erkannt werden können, haben erfahrungsgemäß nicht den geringsten Einfluß auf die Genußtauglichkeit des Fleisches.“ Da fragt es sich doch, ob diese Ansicht in der Allgemeinheit heute noch zu Recht bestehen kann. Sicher werden bei vielen Abscessen Erreger vorhanden sein, durch die die Genußtauglichkeit des Fleisches nicht gestört wird, aber es können doch auch schädliche Erreger und besonders anscheinend Paratyphus B solche Abscesse hervorrufen. Bei einer Reihe von Fleischvergiftungen (8, 9), hat das Fleisch von Tieren gestammt, die vereinzelte oder multiple Abscesse aufwiesen. Wenn auch die direkte Infektion von Schlachttieren mit Paratyphus Kutscher und Meinicke nicht geglückt ist, ist doch die Möglichkeit, daß unter besonderen Umständen eine solche Infektion eintreten kann, nicht von der Hand zu weisen, besonders da, wie bekannt, nicht nur bei subkutaner Infektion von Meerschweinchen Absceßbildung auftritt, sondern auch bei Kaninchen und Ziegen von B. Fischer (10) nach subkutaner Einverleibung von Paratyphus zum Zweck der Immunisierung das Auftreten großer Abscesse beschrieben ist.

v. Drigalski verlangt zur Einschränkung der Fleischvergiftungen durch Paratyphus, von denen gerade in letzter Zeit mehrere beschrieben sind (11, 12, 13), bakteriologische Untersuchung von dem Fleisch jedes Tieres mit Erkrankung unbekannter Aetiologie und, falls Paratyphus gefunden wird, Vernichtung des Fleisches. Diese Forderung ist sicher noch nirgends erfüllt worden, und sie kann auch nur erfüllt werden, wenn die Kenntnisse über die einschlägigen bakteriologischen Verhältnisse auch unter Nichtärzten Eingang finden. Daß dies noch keineswegs der Fall ist, beweist die von der Polizeidirektion erfolgte Sendung des Fleisches an das landwirtschaftliche Institut zur Feststellung der in dem Fleisch enthaltenen Gifte, und die Antwort, die wir vom Schlachthofe erhielten, in der weiter die Ansicht ausgesprochen wurde, daß die Erkrankungen wohl durch das in dem Fleische enthaltene Präservesalz hervorgerufen seien.

Eine systematische bakteriologische Untersuchung an einer großen Anzahl von Tieren über das Vorkommen von Paratyphus, wie sie von Basenau (14) schon versucht ist, wird Klarheit bringen, inwieweit der Paratyphus ein Erreger von Tierkrankheiten ist.

Literatur.

1) Kutscher und Meinicke, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LII. 1906.
2) De Nobele, Kolle-Wassermanns Handbuch, van Ermengem.
3) Koch, Robert, Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfektionskrankheiten. Leipzig 1888. p. 40 ff.
4) Vagedes, Klinisches Jahrbuch. Bd. XIV. 1905.
5) v. Uhlenhuth, Leuthold-Gedenkschrift. 1905.
6) Rolly, Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXVII. 1906.
7) Kutscher, K. H., Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LV. 1906.
8) Gaffky und Paak, Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamt. Bd. VI.
9) v. Drigalski, Festschrift für Robert Koch. 1903.

10) Fischer, Bernhard, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. XXXIX. p. 447.
11) Kutscher, K. H., cf. zit. Arbeit.
12) Curschmann, C. Th., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LV. 1906. Heft 2.
13) Heller, O., Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIII. 1906. Heft 2.
14) Basenau, Dissertation Amsterdam, ref. Baumgartens Jahresberichte. 1897. p. 678.

Ueber einige atypische Dysenteriestämme.

[Aus dem pathol.-anat. Institute (Vorstand: Prof. Dr. Weichselbaum) und dem Carolinen-Kinderspitale (Vorstand: Dozent Dr. W. Knöpfelmacher) in Wien.

Von Dr. **Carl Leiner,** emerit. Assistenten des Carolinen-Kinderspitales.

Die ursprüngliche Annahme, daß wir in dem Dysenteriebacillus, wie er im Jahre 1898 von Shiga zum ersten Male beschrieben wurde, den Vertreter einer einheitlichen Bakteriengruppe vor uns haben, hat sich im Laufe der weiteren Forschung als nicht richtig erwiesen. Schon Kruse hat — gestützt auf seine serologischen Erfahrungen — darauf hingewiesen, daß nicht alle Ruhrerkrankungen, auch wenn sie in ihren klinischen Symptomen völlig gleichartig sind, von ein und demselben Bakterium hervorgerufen sein müssen. So trennte er von der echten epidemischen Dysenterie die Pseudodysenterie der Irren, hauptsächlich deshalb, weil die bei letzteren gefundenen Dysenteriebacillen, die sonst von den echten Ruhrbacillen sich nicht unterschieden, von spezifischem Ruhrserum nicht agglutiniert wurden.

Weitere Arbeiten, insbesondere die von Martini und Lentz, die sich mit vergleichenden Untersuchungen der aus verschiedenen Epidemieen beschriebenen Dysenteriestämmen befaßten, kamen zu dem Resultate, daß sich nach den kulturellen Eigenschaften und dem Verhalten hochwertigem Serum gegenüber die Erreger der bacillären Dysenterie in 2 Hauptgruppen einteilen lassen. Als Typus der einen Gruppe kennen wir den Bacillus dysenteriae Shiga-Kruse, als Typus der zweiten Gruppe den Bacillus dysenteriae Flexner. Die beiden Typen gemeinsamen Hauptmerkmale sind: Die Unbeweglichkeit des Bakteriums, sein Unvermögen Zucker zur Vergärung und Milch zur Gerinnung zu bringen. Durch ihr verschiedenes Wachstum auf Lackmusmannitagar lassen sie sich nach Lentz leicht kulturell differenzieren. Während nämlich der Shiga-Bacillus den blauen Farbenton des Nährbodens beim Wachstum unverändert läßt, führt der Bacillus Flexner durch Säurebildung eine Rotfärbung des Nährbodens schon nach 24 Stunden herbei.

Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal beider Typen liegt darin, daß der Bacillus Flexner nach mehrtägigem Wachstum in Peptonwasser Indol bildet (Lentz, Leiner), während dies beim Bacillus Shiga-Kruse nicht der Fall ist. Hand in Hand mit diesen kulturellen Differenzen geht das verschiedene Verhalten beider Bacillentypen gegen hochwertiges Serum, indem ein mit dem Shiga-Stamm erzeugtes Immunserum nur den eigenen Stamm, nicht aber in gleicher Weise den Flexner-Stamm und ebenso umgekehrt ein mit dem Bacillus Flexner erzeugtes Serum nur den homologen Stamm, nicht auch den

heterologen Bacillus agglutiniert. Absorptionsversuche haben gezeigt, daß es sich hier um differente Agglutinine handelt. Diese von Martini und Lentz auf Grund eingehender Untersuchung aufgestellte Differenzierung des Dysenteriebacillus erfuhr durch zahlreiche Arbeiten volle Bestätigung (Jürgens, Jehle, Dörr, Leiner u. A.).

Weitere Differenzen beider Stämme haben sich bei der Prüfung der Virulenz und Toxizität ergeben. Während bei der Verwendung von Meerschweinchen zu den Tierexperimenten sich bezüglich der Virulenz eine ziemliche Gleichartigkeit beider Bacillentypen ergibt, führt die Verwendung von Kaninchen zur Bestimmung der Pathogenität und Toxinbildung zu eingehenden Differenzen, die besonders für die Serumtherapie der bacillären Dysenterie von großer Bedeutung sind. Kraus und Dörr haben in einer Reihe von Arbeiten, die sich mit der experimentellen Erforschung der Serotherapie der Dysenterie befaßten, auf die großen und konstanten Differenzen beider Bacillentypen hingewiesen.

Schon geringe Dosen des Bacillus Shiga-Kruse vermögen bei einem Kaninchen nach subkutaner oder intravenöser Injektion ein ganz typisches, charakteristisches Krankheitsbild hervorzurufen. Dabei ist es gleichgültig, ob die Bacillen lebend oder abgetötet injiziert werden. Nach mehrtägiger Inkubationszeit tritt zunächst eine Parese der hinteren Extremitäten ein, die in kurzer Zeit in eine totale Paralyse übergeht, worauf rasch der Exitus des Tieres erfolgt. Ganz anders verhalten sich die Tiere bei gleichen Injektionen Flexner-Kulturen gegenüber.

Bis auf eine geringe Abmagerung treten selbst nach stärkeren Dosen — bis 4 Oesen — keine Krankheitssymptome auf. Auch bezüglich der Toxinbildung verhalten sich nach Kraus und Dörr beide Stämme völlig different. Der Hauptunterschied in dieser Beziehung liegt darin, daß der Shiga-Krusesche Bacillus lösliche Toxine bildet, während dies beim Bacillus Flexner nicht der Fall ist. Filtrate mehrtägiger Bouillonkulturen oder eintägiger in Kochsalz aufgeschüttelter Agarkulturen von dem Bacillus Shiga-Kruse wirken bei intravenöser Injektion hoch toxisch für Kaninchen.

Schon geringe Dosen von 0,05—0,01 ccm erwiesen sich tödlich; der Exitus erfolgt ebenfalls unter Lähmungserscheinungen, die mit einer Parese der hinteren Extremitäten einsetzen. Alle bisherigen Versuche, auch aus den verschiedenen Kulturen des Typus Flexner ein lösliches Toxin zu gewinnen, führten zu keinem eindeutig positiven Resultate. Die Wirkung des Bacillus muß daher in einem endocellulären Gifte beruhen. — Auf Grund aller dieser Differenzen wird von sämtlichen Autoren die Einteilung der Dysenteriebacillen in die 2 Hauptgruppen, die durch

I. den Typus Shiga-Kruse und
II. Typus Flexner charakterisiert sind,

aufrecht erhalten.

Im Laufe der verschiedenen Epidemieen wurden nun in den Stühlen der Erkrankten mitunter Bacillen gefunden, die ihren Haupteigenschaften nach zwar mit dem einen oder dem anderen Typus übereinstimmten, andererseits aber doch sich in mancher Beziehung von den Haupttypen unterschieden, was zu einer Abtrennung dieser Bacillen von der Hauptgruppe führte resp. die verschiedenen Autoren veranlaßte, die Erreger der bacillären Dysenterie nicht in 2, sondern in mehrere Gruppen einzuteilen. Dabei betreffen die Unterabteilungen bisher immer den Typus Flexner. Die Differenzen, die sich beim Vergleiche der ver-

schiedenen Dysenteriestämme vom Typus Flexner ergeben, beruhten hauptsächlich auf dem ungleichartigen Verhalten der Stämme beim Wachstum auf den verschiedenen Lackmus-Zuckernährböden. Diese vergleichenden Untersuchungen führten Hiss dazu, den Erreger der bacillären Dysenterie in 4 Gruppen einzuteilen.

Gruppe I, zu der der Bacillus Shiga, Kruse und Flexner New Haven gehört, zersetzt Dextrose.

Gruppe II (Hiss und Russels Y-Bacillus) rötet Dextrose und Mannit, Maltose und Saccharose wird nur langsam und unvollkommen verändert.

Gruppe III (Bacillus Strong) zeigt dasselbe Verhalten wie Gruppe II, nur wird Saccharose ebenso rasch verändert wie Mannit.

Gruppe IV (Flexners Bacillen aus Manila) verändert Mannit, Maltose, Dextrín rasch, Saccharose langsam.

Diese Gruppen lassen sich nun nicht nur in kultureller Beziehung voneinander abtrennen, sondern auch bei Berücksichtigung der Agglutinationsverhältnisse. Aus den Untersuchungen von Hiss, Park und Liefmann-Nieter geht hervor, daß jede dieser Gruppen spezifische Agglutinine bildet, was mittels des Castellanischen Absorptionsversuches leicht nachgewiesen werden kann. Liefmann und Nieter trennen ähnlich wie bei Typhus die Erreger der bacillären Dysenterie in 2 Hauptgruppen: 1) in die echten Ruhrbacillen (Shiga-Kruse) und 2) in die Pararuhrbacillen, von denen wieder 2 Varietäten zu unterscheiden sind. Typus a (Hiss und Russels Y-Bacillus) und Typus b (Flexners Bacillus aus Manila).

Im Anschlusse an diesen kurzen Ueberblick über den gegenwärtigen Stand der Frage die Gruppierung und Differenzierung der Dysenteriebacillen betreffend, will ich über eine kleine Anzahl von atypischen Dysenteriestämmen berichten, die sich von sämtlichen bisher beschriebenen hauptsächlich dadurch unterscheiden, daß sie nach mehrtägigem Wachstum im stande sind, Milch zur Gerinnung zu bringen, eine Eigenschaft, die bisher zu den obligaten Merkmalen der Coli-Gruppe gezählt wurde. In den letzten 2 Jahren hatte ich im ganzen 5mal Gelegenheit, diesen atypischen Bacillus aus den Stühlen von Dysenteriekranken zu züchten. Das erste Mal wurde ich bei einem Kranken unseres Spitales auf diesen Bacillus aufmerksam. Es handelte sich um ein 3-jähriges Kind, das wegen Tetanie im Spitale lag und daselbst nach mehrtägigem Aufenthalte an typischer Dysenterie mit den charakteristisch schleimigblutigen Entleerungen erkrankte.

Eine Uebertragung auf andere Kinder des Zimmers war nicht erfolgt; die Erkrankung dauerte mit akuten Erscheinungen 2 Tage und ging alsbald in Genesung über.

Die mikroskopische Untersuchung des Stuhles ergab das für diese Krankheit typische Bild: Ziemlich reichliche Leukocyten und Epithelien und spärliche, zum Teil intracellulär gelagerte, sich nach Gram entfärbende Stäbchen. Zur kulturellen Bestimmung wurden Agarstrichplatten und Lackmusmannitagarplatten angelegt.

Schon nach 24 Stunden konnte nach dem charakteristischen Schleim-(Sperma-)Geruch der Agarplatten und dem Aussehen der Kolonieen die Diagnose, daß wir den Bacillus dysenteriae vor uns haben, mit Sicherheit gestellt werden. (Die Kolonieen unterscheiden sich von den Coli-Kolonieen dadurch, daß sie nicht so sehr in die Fläche wachsen, mehr knopfförmig, im Zentrum opak sind und nur am Rande irisieren).

Der den Kolonieen auf Agarplatten anhaftende Schleimgeruch geht auf den Mannit- und anderen Zucker-Lackmusnährböden, auf denen es durch Säurebildung zur Rötung des Nährbodens kommt, verloren. Zur genaueren Bestimmung des gefundenen Bacillus wurden von ca. 10 verschiedenen Platten entnommenen Kolonieen Zuckeragar-, Schüttel- und Stichkulturen und außerdem 2 Milchkulturen angelegt.

In keinem der Zuckerröhrchen kam es zur Vergärung. Das Verhalten der Milchkulturen bot in den ersten Tagen nichts Auffallendes. Vom 4. Tage an jedoch kam es zu einer Eindickung der Milch, die in den nächstfolgenden Tagen zunahm, so daß am 7. Tage eine deutliche gallertige Gerinnung der Milch mit Molkeauspressung eingetreten war. Um jede Verunreinigung in den Milchröhrchen auszuschließen, legte ich von den Milchkulturen neuerdings Agarstrichplatten an, die den Dysenteriebacillus in Reinkultur ergaben. Von den Agarplatten neuerdings angelegte Zuckeragarröhrchen ließen jede Spur einer Gärung vermissen. Der Bacillus verhielt sich sonst dem Bacillus Flexner konform. In Bouillonröhrchen bildete er nach ca. 5 Tagen deutliches Indol. Auf Gelatinegußplatten bildete er nach mehrtägigem Wachstum bei Zimmertemperatur bläulich durchscheinende, blattartige Oberflächenkolonieen. Der Bacillus erwies sich im hängenden Tropfen als unbeweglich. Der gezüchtete Bacillus wurde vom homologen Serum nur in Verdünnungen von 1:20 agglutiniert, was zu keinem besonderen Schlusse berechtigt, da wir ja wissen, daß gerade der Flexner-Typus auch vom Serum Gesunder in dieser und auch höheren Verdünnungen agglutiniert wird.

Dieser auffallende Befund des Bacillus, Milch langsam zur Gerinnung zu bringen, veranlaßte mich, meine sämtlichen Dysenteriestämme, die verschiedenen Epidemieen entstammen, daraufhin zu untersuchen. Leider standen mir die im Jahre 1904 gezüchteten und beschriebenen Stämme nicht mehr zur Verfügung. Bei keinem meiner Stämme konnte ich diese Eigenschaft wiederfinden. Dagegen hatte ich im Laufe anderer Untersuchungen noch einige Male Gelegenheit, derartige Bacillen zu züchten.

Gelegentlich einer Dysenterieepidemie in St. Medolino im Jahre 1905 wurden Stühle zur Untersuchung an das pathologisch-anatomische Institut geschickt. Bei der mir übertragenen Untersuchung derselben gelang es mir in 2 Fällen, Bacillen zu kultivieren, die unbeweglich waren, Zucker nicht vergärten und ihrem Verhalten nach auf Lackmusmannitagar dem Flexner-Typus angehörten, allein ebenfalls im stande waren, Milch zur Gerinnung zu bringen. Dabei trat bei diesem Stamme die Gerinnung etwas rascher ein als bei dem zuerst beschriebenen.

In anderen Fällen von St. Medolino ergab die Züchtung nur Coli-Bacillen. Auch im Jahre 1906 fand ich 2mal im Stuhle von Dysenteriekranken — es handelte sich diesmal um Erwachsene — das eine Mal um eine akut verlaufende, das andere Mal um eine chronische Dysenterie (Erkrankung eines Offiziers, der den russisch-japanischen Feldzug mitgemacht hat) Bacillen mit der Fähigkeit, Milch zur Gerinnung zu bringen. Ich möchte hierbei noch hervorheben, daß der eine dieser beiden letzten Stämme auch in seinem Wachstum auf Agarplatten von dem typischen Dysenteriebacillus insofern differierte, als es nicht zur Schleimgeruchbildung kam, ein Symptom, das ich bisher auf Agarnährböden nie vermißte.

Diese 4 resp. 5 Stämme verhielten sich mit Ausnahme der Milchgerinnungseigenschaft völlig wie der Dysenteriebacillus Typus Flexner.

Sie waren unbeweglich, brachten Zuckernährböden nie zur Gerinnung und röteten Lackmusmannitagar. Es ist selbstverständlich nicht mit Sicherheit zu behaupten, ob neben diesen Stämmen nicht auch andere vorhanden gewesen, denen die Eigenschaft der Milchgerinnung fehlte, wenn ich auch besonders nach dem ersten diesbezüglichen Befunde bei den weiteren zur Untersuchung gelangten Fällen fast alle Kolonieen der ersten Platten daraufhin untersuchte.

Nach dem Vorschlage von Hiss stellte ich nun vergleichende kulturelle Untersuchungen mit meinen Stämmen an, und zwar zunächst auf den verschiedenen Zuckerlackmusnährböden.

Diese Untersuchung führte zu folgendem Resultate. Es wurden Strichplatten und Schüttelkulturen angelegt.

Mit Ausnahme des Stammes V, der auf Milchzuckerlackmusagar in gleicher Weise wie Coli Rötung des Nährbodens herbeiführte, zeigten die übrigen Stämme keinerlei Abweichungen dem Typus Flexner gegenüber. Es wurden nun weiter vergleichende Kulturversuche auf dem Endoschen Nährboden und in Lackmusmolke angestellt. Der Endosche Nährboden bewährt sich nicht nur zur raschen Differenzierung

	Lackmus-Mannit-agar	Trauben-zucker-Lackmus-agar	Maltose-Lackmus-agar	Saccha-rose-Lackmus-agar	Milch-zucker-Lackmus-agar	Dextrin-Lackmus-agar	Schüttel-kultur
Stamm I (Schalann)	Rötung n. 24 Stdn	Rötung n. 24 Stdn	Rötung n. 24 Stdn	der Nährboden bleibt blau	blau	blau	in keinem der Zuckernährböden Gasbildung
II u. III (Medolino)	„	„	„	blau, vereinzelte Kol. rötlich	„	„	keine Gasbildung
IV (Land)	„	„	„	blau	„	„	„
V (G)	„	„	„	„	rot	„	„
Flexner	„	„	„	„	blau	„	„
Coli	„	„	rot	rot	rot	rot	Gasbildung in allen Nährböden

der Typhus-Coli-Bacillen, indem die Bacillen der Typhus- und Paratyphusgruppe den Nährboden ungefärbt lassen, während die Coli-Bacillen durch Säurebildung eine Rotfärbung desselben herbeiführen, sondern ist auch bei Untersuchung von Dysenteriestühlen sehr gut brauchbar. Auch die Bacillen der Dysenteriegruppe (Shiga und Flexner) lassen im allgemeinen den Nährboden in den ersten 24 Stunden ungefärbt. Meine damit angestellten Kulturversuche ergaben für meine Stämme, mit Ausnahme des Stammes V, ein einheitliches Resultat. Der Nährboden blieb immer ungefärbt, nur Stamm V wuchs unter intensiver Rötung des Agars.

Auch in Petruschkyscher Lackmusmolke zeigten sich keine Wachstumsdifferenzen. Sämtliche Stämme führten zur Rötung und Säuerung der Nährflüssigkeit innerhalb der ersten 24 Stunden und auch bei längerem Wachstum trat keine weitere Veränderung der Nährflüssigkeit auf.

Die Säurebildung betrug, mit $^1/_{10}$-Normallauge austitriert, bei sämtlichen Stämmen über 10 Proz.

Bezüglich der Eigenschaft, Milch zur Gerinnung zu bringen, ver-

hielten sich die Stämme fast ganz gleich; vom 4. Tage an konnte ein Dickerwerden der Milch beobachtet werden; beiläufig am 6. Tage war die Gerinnung der Milch deutlich zu konstatieren. Am raschesten vollzog sich die Gerinnung beim Stamm II und V, die bisweilen schon am 4. Tage die Milch zur Gerinnung brachten.

Es hängt dies mit der etwas schwankenden Reaktion der sterilisierten Milch und wahrscheinlich mit dem ungleichmäßigen Säurebildungsvermögen der Bacillen zusammen. Die Gerinnung war immer eine gallertige, zur Klumpenbildung wie bei Coli kam es niemals. Bei Alkalisierung der Milch durch Zusatz von mehreren Kubikcentimetern von 10-proz. Sodalösung verzögerte sich die Gerinnung der Milch um mehrere Tage und trat in viel schwächerem Grade auf, ein Beweis dafür, daß es sich wie bei Coli um eine Säuregerinnung handelt.

Diese Eigenschaft, die Milch zur Gerinnung zu bringen, unterscheidet meine Stämme von sämtlichen bisher beschriebenen. Lentz hat seiner Zeit eine große Reihe von Dysenteriebacillen aus verschiedenen Epidemiestämmen daraufhin untersucht und bei keinem der Stämme Milchgerinnung konstatieren können. Meine Untersuchungen gingen nun weiter dahin, eine Bestimmung der Stämme auf biologischem Wege vorzunehmen. Von den Kranken selbst stand mir nur Serum bei Fall I zur Verfügung. Wie bereits oben erwähnt, zeigte der aus diesem Falle gezüchtete Stamm I nur eine Agglutination von 1:20. Diese niedrige Agglutination läßt sich damit erklären, daß die Erkrankung nur 2 Tage dauerte und unter den leichtesten Symptomen verlief; abgesehen davon, wissen wir, daß die Agglutination in dieser Verdünnung überhaupt zu keinem Schlusse irgend welcher Art berechtigt, da auch das Serum Gesunder den Flexner-Typus in dieser und auch höherer Verdünnung agglutinieren kann.

Ich ging nun weiter daran, mittels hochwertigem Serum eine Bestimmung resp. Gruppierung meiner Stämme vorzunehmen. Ein mir von Prof. Kraus in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestelltes hochwertiges Serum agglutinierte einen typischen Flexner-Stamm in Verdünnung von 1:300. Meine Stämme hingegen wurden von diesem Serum nur in Verdünnungen von 1:30 agglutiniert, der Stamm V nur in einer Verdünnung von 1:20. Gleichzeitige Agglutinationsbestimmungen mit Paratyphusserum, das ich dem liebenswürdigen Entgegenkommen der Firma Merck in Darmstadt verdanke, führten zu einem völlig negativen Resultate.

Es hat bereits Dörr auf Grund ähnlicher Resultate bei der Prüfung der Agglutination und elektiven Absorption verschiedener Dysenteriestämme mit hochwertigem Flexner-Serum die Ansicht ausgesprochen, daß wir es nicht immer mit echten Dysenteriebacillen zu tun haben, wie sie bei Epidemieen zu finden sind, sondern daß oftmals, insbesondere bei den sporadischen Fällen der Kinderruhr und bei der Ruhr der Irren nur ruhrähnliche Bacillen gefunden werden, die von dem Serum der echten Flexner-Bacillen in ungleichmäßiger Weise beeinflußt werden. Es lag nun der Gedanke nahe, daß diese atypischen Dysenteriebacillen, die ja ihren kulturellen Eigenschaften nach sich leicht in eine Gruppe „der Milchvergärer“ bringen lassen, auch in ihrem biologischen Verhalten, der Bildung der Agglutinine, eine gemeinsame Gruppe bilden und sich auch hierdurch von dem Haupttypus unterscheiden könnten. Zu dieser Bestimmung wurden mit zwei der von mir gefundenen Stämme (Stamm I und II) je ein Kaninchen immunisiert. Leider gelang es mir bisher

nicht, ein Serum mit einem höheren Titer als 1 : 200 zu gewinnen. Diese Sera agglutinieren nur den homologen Stamm in der genannten Verdünnung, beeinflußten aber fast gar nicht die übrigen Stämme. Verdünnungen von 1 : 50 bewirkten keine Agglutination mehr. Dieses Resultat scheint darauf hinzuweisen, daß auch die zur Gruppe der Milchvergärer gehörenden Dysenteriebacillen sich bezüglich der Agglutininbildung keineswegs gleichartig verhalten. Bezüglich der Pathogenität stimmen meine Stämme im großen und ganzen mit dem Flexner-Typus überein. Subkutane Injektionen werden von den Versuchstieren (Meerschweinchen und Kaninchen) ohne besondere Schädigung vertragen. Intraperitoneale Verimpfungen geringer Mengen erzeugen bei den Tieren eine eiterige Peritonitis, der die Tiere in kurzer Zeit, 24 Stunden bis 3 Tagen, erliegen.

Aus den Arbeiten von Kraus und Dörr wissen wir, daß im Gegensatze zu dem Shiga-Typus der Flexner-Bacillus nur Endotoxine und nicht lösliche Toxine bildet, daß also Filtrate von Bouillonkulturen des Flexner-Bacillus von den Tieren ohne besondere Schädigung vertragen werden. Nach der Angabe von Kraus und Dörr stellte ich mit Filtraten, stammend von 8 Tage alten und auch älteren Bouillonkulturen, bei Kaninchen Injektionsversuche an. Es zeigte sich analog den übrigen Flexner-Stämmen, daß intravenöse Injektion selbst hoher Dosen (3 ccm und mehr) auch von ganz jungen Tieren gut vertragen wurden.

Nur bei 2 Tieren brachte eine intraperitoneale Injektion von Bouillonfiltraten (Stamm I) — 3 ccm für je ein mittelgroßes Kaninchen — nach 4 Tagen typische Lähmungserscheinungen der Hinterbeine hervor, auf die alsbald eine totale Paralyse folgte, der das Tier am Ende der ersten Woche erlag. Bei der Sektion konnte nur schwere Degeneration der Organe konstatiert werden (Prof. Ghon). Weitere Kontrollversuche haben jedoch nie mehr zu diesem von der Norm abweichenden Resultate geführt, so daß ich auf diesen vereinzelten Befund nicht weiter eingehen will.

Wenn ich kurz das Resultat meiner Arbeit resumiere, so habe ich bei einer kleinen Reihe von Dysenteriefällen verschiedener Provenienz, in einem Falle sporadische Kinderruhr (Fall I), in einem Falle von sporadischer Ruhr Erwachsener (Fall V), in 3 Fällen epidemische Dysenterie (Fall II, III und IV), Bacillen züchten können, die sich im Gegensatze zu den bisher beschriebenen Dysenteriebacillen als „Milchvergärer“ erwiesen und ihrem sonstigen morphologischen und kulturellen Verhalten nach aber bis auf den Stamm V, der Endo-Agar und Milchzuckerlackmusagar rötete, mit dem Flexner-Typus übereinstimmten und ihrer Pathogenität nach keine besonderen Differenzen dem Flexner-Typus gegenüber erkennen ließen. Weitere genaue kulturelle Bestimmungen werden uns lehren, ob wir hier wirklich eine neue Gruppe von Dysenteriebacillen vor uns haben, die bei besonderen Fällen von Dysenterie in Reinkultur vorkommen, oder ob diese Bacillen nur als atypische Formen neben anderen typischen zu finden sind.

Literatur.

Shiga, Ueber den Erreger der Dysenterie in Japan. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898.)

Kruse, Weitere Untersuchungen über die Ruhr und die Ruhrbacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 23 u. 24.)

Martini u. Lentz, Die Differenzierung der Ruhrbacillen mittels der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLI. 1902.)
Lentz, Vergleichende kulturelle Untersuchungen über die Ruhrbacillen, nebst einigen Bemerkungen über den Lackmusfarbstoff. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLI. 1902.)
— —, Weitere Beiträge zur Differenzierung des Shiga-Kruseschen und des Flexnerschen Bacillus. (Ibid. Bd. XLIII. 1903.)
Leiner, Ueber bacilläre Dysenterie, speziell im Kindesalter. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 25 u. 26.)
Jürgens, Untersuchungen über die Ruhr. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LI. 1904.)
Jehle und Charleton, Ueber epidemische und sporadische Ruhr im Kindesalter. (Zeitschr. f. Heilk. 1905.)
Dörr, Beitrag zum Studium des Dysenteriebacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLIII. 1903.)
Kraus, Ueber den derzeitigen Stand der Dysenterieätiologie und -therapie. (Monatsschr. f. Gesundheitspfl. 1904.)
Kraus u. Dörr, Ueber experimentelle Therapie der Dysenterie. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 42; 1906. No. 30.)
Hiss, On fermentative and agglutinative characters of bacilli of the dysentery group. (Journ. of med. research. Vol. XIII. 1904.)
Liefmann und Nieter, Ueber Ruhr bei Irren. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 43.)
Park, Collins and Goodwin, The dysentery bacillus group and the varieties which should be included in it. (Journ. of med. research. Vol. XI. 1904.)

Ueber die Empfänglichkeit der Fleischfresser (Hund) und der Wiederkäuer für experimentelle Syphilis[1]).

[Aus dem Institut für Hygiene der Universität Turin.]

Von Dr. **E. Bertarelli**, Privatdozenten.

Als ich im Januar dieses Jahres die Resultate meiner Versuche über das Kaninchenübergangsvirus und über die positiv ausgefallenen Einimpfungen desselben auf Affen und Kaninchen beschrieb, teilte ich meine Vermutung mit, daß man durch das Kaninchenvirus eine Hornhautsyphilis bei vielen Säugetieren verursachen könne.

Meine Vermutung scheint mir nun zur Sicherheit geworden zu sein, und auf Grund der Versuche, über deren Resultate ich hier berichten werde, kann ich schon behaupten, daß das Uebergangsvirus der Hornhautsyphilis im stande ist, eine experimentelle Augensyphilis bei verschiedenen Säugetieren zu erzeugen, und daß diese Tatsache vorläufig für den Hund und das Schaf mit Sicherheit festgestellt ist.

Ich berichte kurz über die von mir ausgeführten Versuche. Obwohl in geringer Zahl, sind dieselben so beweisend, daß sie jeden Zweifel über die Sache ausschließen.

Am 27. Jan. inokulierte ich mit kleinen, frisch bereiteten Stückchen aus der Hornhaut eines Kaninchens mit Syphilis 7. Ueberganges einen ziemlich großen Hund und ein Schaf.

---

1) Mitteilung in der kgl. Accademia di Medicina von Turin, in der Sitzung vom 16. Febr. 1907, wobei die Versuchstiere gezeigt wurden.

Kurz nach dieser Mitteilung wurde mir von Dr. Hoffmann angezeigt, daß ihm auch die Infizierung des Hundes gelungen ist, was er bei einer Sitzung der Deutschen med. Gesellschaft Ende Februar 1907 mitgeteilt hat.

Die Impfung wurde in der üblichen Weise ausgeführt: Ein kleines Stückchen der Hornhaut, von der Größe der Hälfte eines Stecknadelkopfes, wurde, nachdem es in einer sterilen Kochsalzlösung gewaschen worden war, in die Vorderkammer des Auges des Versuchstieres eingeführt. Bei einem der Augen des Hundes beschränkte ich mich darauf, daß ich die Hornhaut etwas wund machte (Skarifikation), und daß ich auf die Wunde etwas Hornhautmaterial strich.

4 Tage nach der Operation war jedes Zeichen der lokalen Reizung verschwunden, und man konnte kaum den Punkt, wo die Inzision der Hornhaut gemacht worden war, unterscheiden. Nach 8 Tagen war keine Spur der Verletzung mehr sichtbar, abgesehen von einem geringen weißlichen Streifen in der Nähe des Limbus.

Am 12. Febr. (16 Tage nach der Einimpfung) zeigten aber beide Tiere Erscheinungen, welche zu keinem Zweifel Anlaß geben konnten. In der Nähe der Impfstelle erschien die Conjunctiva sclerae injiziert und die Hornhaut erhaben und etwas getrübt. Einige Tage später ließ die Läsion keinen Zweifel mehr: die Keratitis dehnte sich auf eine bedeutende Fläche aus, obwohl sie anscheinend, besonders bei dem Schaf, nur eine gut begrenzte Zone in der Nähe der Einimpfungsstelle einnahm. Bei dem Hunde war dagegen die Reaktion eine viel lebhaftere, und das Syphilom dehnte sich aus und wurde deutlicher sichtbar.

Die Läsionen waren sowohl bei dem Hunde wie bei dem Schafe in einem Auge ausgesprochener als in dem anderen. Besonders beim Hunde beobachtete man eine auf der Oberfläche der Sklera und der Hornhaut deutlich hervortretende Bindegewebsneubildung, welche allmählich zunahm und von einer ausgesprochenen Gefäßneubildung begleitet wurde.

Am 3. März war bei dem Hunde die Läsion sehr ausgedehnt, und es wurde das Auge exstirpiert. Mit einem Teile der verletzten Hornhaut wurden Einimpfungen auf Kaninchen ausgeführt; mit dem übrigen Teile wurden mikroskopische Ausstrich- und Quetschpräparate bereitet.

Dem Schaf wurde auch das Auge exstirpiert und die Hornhaut teils zu Einimpfungen auf Kaninchen, teils zu histologischen und bakteriologischen Untersuchungen gebraucht.

Der Befund war dabei ein konstanter; der biologische Versuch mit den Kaninchen hatte sowohl mit der Hunde- wie mit der Schafhornhaut einen unzweifelhaft positiven Ausgang.

Desgleichen war der Spirochätenbefund sowohl in den Gewebsschnitten wie bei dem Hunde in den ohne Färbung untersuchten Quetschpräparaten ein positiver.

Diesbezüglich muß ich bemerken, daß nach diesem Nachweis der Spirochäten in den Hornhautausstrichpräparaten und in den Hornhautfrischpräparaten (betr. der ersteren scheint mir Schucht zuerst den Versuch ausgeführt zu haben) mir jede Diskussion über die wirkliche Natur der mit Silber durchtränkten Spirochäten, wenigstens bezüglich der Tatsache der wirklichen Anwesenheit von Spirochätenformen in den infizierten Hornhäuten, überflüssig scheint.

Der histologische Befund zeigte nichts Eigentümliches; auch hier hatte man, wie sonst beim Kaninchen, eine Leukocyteninfiltration.

Die Reaktion war ohne Zweifel nicht eine so lebhafte, wie bei dem Kaninchen, auch die Spirochäten erschienen mir nicht so zahlreich, wie ich bei einigen Exemplaren von Kaninchensyphilis zu beobachten Gelegenheit gehabt hatte. Ich bemerke hier, daß in der Hornhaut des

Hundes die ziemlich geraden Spirochäten, mit wenig ausgesprochenen Windungen oder einfach ohne Windungen ziemlich zahlreich waren.

Die Erscheinungen, welche ich in dieser Weise auf experimentellem Wege beim Hunde und beim Schaf erzeugen konnte, erlauben mir, nicht nur die Empfänglichkeit dieser Tiere für die Augensyphilis als sicher zu geben, sondern sie bestätigen auch teilweise die Vermutung, welche ich bezüglich des syphilitischen Hornhautübergangsvirus äußerte, daß mein Hornhautvirus die Eigenschaft hätte, die Hornhautsyphilis auf manche Säugetiere zu übertragen.

Offenbar kann man daraus folgern, daß der Syphiliserreger bei seinem Durchgange durch das Kaninchen sich an die neuen Lebensbedingungen adaptiert hat und dadurch die Fähigkeit erworben hat, sich auch in der Hornhaut anderer Tiere gut zu entwickeln.

Eher könnte man die Frage stellen, wie die eigentümliche Erscheinung zu erklären ist, daß im Tierreich die Spirochäten die besondere Eigenschaft zeigen, einzig und allein in der Hornhaut zu gedeihen (die von mir im Kaninchen beobachteten Lähmungen kann man nicht als unzweifelhaft syphilitischer Natur ansehen, da die beweisenden Ergebnisse des Spirochätenbefundes und der positiv ausgefallenen Einimpfung auf andere Tiere fehlen), während in anderen Körperteilen oder Organen die Einimpfung nicht gelingt.

Eine wahrscheinliche Erklärung der Erscheinung bietet vielleicht der Bedarf der Spirochäten nach anaërobiotischen Lebensbedingungen. Offenbar müssen nicht nur die Hornhautlamellen gute Bedingungen der Anaërobiosis bieten, sondern die Entwickelung der Spirochäten wird auch in der Hornhaut dadurch begünstigt, daß hier, zum Unterschied von den anderen Körperteilen, gar nicht der an das Hämoglobin schwach gebundene Sauerstoff hinkommt. Diese Erklärung ist ohne Zweifel nicht vollständig befriedigend, ich wüßte aber keine anderen Tatsachen zu finden, durch welche man das eigentümliche Verhalten der Hornhaut erklären könnte.

In einem neuestens von mir im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. veröffentlichten Aufsatze habe ich mitgeteilt, daß es mir auch gelungen war, die Hornhautsyphilis auf Meerschweinchen zu übertragen. Ich habe den Versuch mehrmals wiederholt, und glaube nun, behaupten zu können, daß das Meerschweinchen weniger empfänglich als das Kaninchen ist.

Unter 10 Meerschweinchen, welche ich nachher inokulierte, reagierten nur 2 durch Augenläsionen, und auch bei den letzteren war der Spirochätenbefund ein sehr geringer. Vielleicht wird zu dem Erfolge der Einimpfung auch von dem materiellen Zustande des Auges des Meerschweinchens und von der Leichtigkeit, mit welcher in diesem Tiere sekundäre Augeninfektionen erzeugt werden, welche die Beobachtungen unmöglich machen, beigetragen, aber auch abgesehen von diesen besonderen Bedingungen kann man ohne Zweifel nicht die Empfänglichkeit der Meerschweinchenhornhaut mit derjenigen der Kaninchenhornhaut vergleichen.

Die 2 infizierten Meerschweinchen starben 5 Wochen nach der Einimpfung; bei der Sektion bestand die einzige interessante Erscheinung in der Anwesenheit von wenigen Knötchen in der Leber, in welchen keine Spirochäten zu finden waren.

Ich will noch einige Worte betreffs meiner in meinem Aufsatze über die Uebertragbarkeit der Syphilis auf Meerschweinchen angeführten

Versuche hinzufügen, und zwar der Versuche, die Syphilis auf Schweine zu übertragen.

Damals sagte ich, daß die Hornhäute der Schweine nach der Einimpfung des Kaninchenvirus eine deutliche Reaktion zeigten. Ich muß dagegen jetzt bemerken, daß nach 4 Wochen die leichten Erscheinungen verschwanden, und daß ich in einem exstirpierten Auge keine Spirochäten finden konnte.

Nach mehreren Wochen habe ich die Einimpfung wieder versucht; in einem der Schweine ist die Reaktion absolut negativ, in dem anderen ist nach 3 Wochen nur eine ganz geringe lokale Reaktion sichtbar; man kann aber absolut noch nicht mit Sicherheit sagen, ob es sich wirklich um einen positiven Ausgang der Impfung, d. h. um ein Gedeihen des Virus handelt.

Deshalb bleibt vorläufig die Frage nach der Möglichkeit, mit Syphilisvirus Schweine zu infizieren, ungelöst.

* * *

Ich will nun noch einige Worte über einen ganz eigentümlichen Fall einer natürlichen Syphilisinfektion des Kaninchens sagen.

Ich hatte seit längerer Zeit in ein und denselben Käfig 2 Kaninchen getan, von denen ich dem einen Syphilis in die Hornhaut eingeimpft und dem anderen Wutvirus — zu anderen Forschungen — in den Hüftnerv inokuliert hatte.

Seinerzeit zeigte das erste Kaninchen die typische Hornhautläsion, und zwar sehr ausgedehnt, so daß eine Blepharitis, vielleicht anderer Natur, entstand.

Seit mehr als 6 Wochen bestanden in diesem Versuchstier die typischen Hornhautveränderungen, als das andere Kaninchen, welches die Wutkrankheiteinimpfung überlebt hatte, anfing, eine leichte Hornhautinfiltration zu zeigen, welche nach und nach an Intensität zunahm, bis sie sich zu einer sehr deutlichen Keratitis entwickelte.

Es wurde das Auge exstirpiert, und sowohl die mikroskopische Untersuchung wie der positive Ausgang der Einimpfung auf andere Kaninchen bestätigten die syphilitische Natur der Läsion.

Man kann sich leicht denken, wie diese natürliche Infizierung hat stattfinden können; in dem wenigen Eiter, welcher sich bei der Blepharitis des experimentell syphilitisch gemachten Kaninchens bildete, müssen wohl Spirochäten gewesen sein, und dieser Eiter wird wohl das andere Kaninchen infiziert haben.

Die Sache ist jedoch ganz sonderbar, und es ist auch nicht leicht denkbar, daß ohne vorher schon existierende Verletzungen der Hornhaut des zweiten Kaninchens das Virus hier habe gedeihen können. Die Ergebnisse des Protokolls gestatten mir aber keinen Zweifel über die Sache, weshalb ich den Fall nicht anders als eine natürliche Infizierung ansehen kann, so eigentümlich er auch erscheinen kann.

Ueber die protozoischen Parasiten bei Syphilis.

Von Prof. Dr. **Max Schüller.**

Mit 7 Photogrammen.

Im Gegensatz zu der fast in der ganzen Welt angenommenen Ueberzeugung, daß wir in den von Schaudinn gefundenen Spirochäten die eigentlichen Erreger der Syphilis zu sehen haben, muß ich nach meinen Untersuchungen daran festhalten, daß ich dies bezweifle. Bei Untersuchungen, welche ich in den letzten Monaten an meinen Präparaten, Schnitten wie Kulturen aus verschiedenen Entwickelungsphasen oder Perioden der Syphilis, in der Weise angestellt habe, daß ich mittels des elektrischen Projektionsmikroskopes in der hiesigen (Berliner) Geschäftsstelle von Carl Zeiss photographische Aufnahmen bei verschiedenen Vergrößerungen, meist bei starken bis zu 2500, machen ließ, hat sich überall in zweifelsfreier, nicht zu widerlegender Sicherheit ergeben, daß zu den Sporozoen gehörende Parasitenformen nicht nur überall anwesend sind, sondern daß sich die einzelnen Phasen der Syphilis direkt an sie und ihre verschiedenen Entwickelungsstadien binden. Ich habe das schon in meinen früheren Arbeiten betont und vielfach Abbildungen genau nach den Präparaten gezeichnet beigegeben, so besonders in meiner größeren Mitteilung „über eigenartige Parasitenfunde bei Syphilis“ im Centralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Bd. XXXII. No. 5—9 mit Tafeln I—VI. Alle folgenden Bearbeiter haben, mit wenigen Ausnahmen, geglaubt, an diesen Tatsachen vorübergehen zu können, ohne sie auch nur zu erwähnen. Sie haben sich, zumal nach Schaudinn und Hoffmanns Mitteilungen, daran genügen lassen, die Spirochäten in Strich- und Schnittpräparaten nachzuweisen, ohne auch nur nachzusehen, ob das die einzigen Funde sind, ob nicht daneben die von mir festgestellten Parasiten vorhanden sind. Die Tatsache, daß Spirochäten, speziell die von Schaudinn als spezifisch angesehene *Spirochaete pallida*, in fast allen Syphilisprodukten und von nahezu jedem der Untersucher in mehr oder weniger reichlicher Menge nachgewiesen werden konnte, beweist — auch wenn ich ganz von den Versuchen absehe (z. B. Salings), dieselbe als Kunstprodukt infolge der angewendeten Methoden, besonders der Versilberungsmethode, darzutun — noch keineswegs, daß dieselbe notwendigerweise auch der Erreger, die Ursache der Syphilis sein muß. Ich habe schon früher darauf hingewiesen, daß gerade bei der Art der syphilitischen Infektion durch eine kleine Wunde oder Schrunde leicht Bakterien verschiedener Art mit dem eigentlichen parasitären Erreger in den zu infizierenden Körper eintreten und im ganzen Körper verbreitet werden können. Sind doch so schon früher zu verschiedenen Zeiten Bakterien nicht nur im primären Infektionsherde, sondern im Blute und in allen Organen des Körpers gefunden worden, welche ursprünglich von den ersten Entdeckern in enge Beziehung zur Entstehung und Verbreitung der Syphilis gesetzt wurden, während sie später nur als zufällige Eindringlinge festgestellt wurden. Gerade diese in der Geschichte der ätiologischen Syphilisforschung wiederholte Erfahrung sollte die Forscher, welche heute so eifrig die Spirochäten als Erreger der Syphilis verteidigen, längst stutzig gemacht haben.

Nach Kochs u. A. Annahme gehören die Spirochäten, nach meinen eigenen Untersuchungen, speziell die *Spirochaete pallida*, die *Spirochaete refringens*, die Mundspirochäten nicht zu den protozoischen, sondern zu den pflanzlichen Parasiten. Sie gehören zu denjenigen Formen, welche leicht wie andere Bakterien überall eindringen und in den Geweben sich verbreiten können. Irgend welche charakteristische Entwickelungsphasen, welche sie in Beziehung zu den Gewebeveränderungen bei Syphilis setzen würden, sind nach meiner Ueberzeugung bislang nicht festzustellen gewesen. Eine Kultur der *Spirochaete pallida*, und die Erzeugung syphilitischer Gewebsveränderungen oder des syphilitischen Krankheitsbildes durch die Spirochäte ist bislang noch nicht gelungen. Daß bei Ueberimpfungen syphilitischen Materiales auch die Spirochäte mit übertragen werden kann und wird, will natürlich nichts besagen. Denn wenn sie auch, wie ich annehme, nur als „Mitläufer" der eigentlichen Syphiliserreger vorhanden ist, so wird sie natürlich mit übertragen und sich an der neuen Impfstelle ebenso, vielleicht noch leichter, vermehren, und haften als der eigentliche Syphiliserreger. Gerade dieses Faktum, der leichte Nachweis der Spirochäten an der Ueberimpfungsstelle, hat ja schon vielfach den Verehrern der Spirochäte genügt, um an die tatsächliche Verimpfung der Syphilis zu glauben (!). Man geht also ganz bewußt auf einem Irrwege: Während man erst beweisen soll, daß die *Spirochaete pallida* tatsächlich und unzweifelhaft der Syphiliserreger ist, sieht man beim Impfversuche in dem Wiedererscheinen der *Spirochaete pallida* an der Impfstelle den Beweis, daß die Syphilis überimpft ist! Das ist doch offenbar ein Trugschluß! Alle darauf basierten Impfversuche müssen nach meiner Ueberzeugung mit berechtigtem Mißtrauen betrachtet werden und die daraus gezogenen weiteren Schlußfolgerungen, wie z. B. in den Neisserschen Massenversuchen, ebenso! Ich befürchte, oder habe vielmehr die Ueberzeugung, daß hier Hekatomben dieser armen Tiere nutzlos geopfert sind.

Wenn man es nur einigermaßen wahrscheinlich machen will, daß bestimmte bei Syphilis gefundene Parasiten in enger ätiologischer Beziehung zu diesem Krankheitsprozeß stehen, so muß man in erster Linie den Nachweis liefern, daß sie nicht nur an der ersten Invasionsstelle vorhanden sind, sondern daß sie auch durchgehends alle charakteristischen Gewebsveränderungen in den verschiedenen Perioden der Syphilis begleiten, an ihnen einen offensichtlichen Anteil haben. Das ist für die Spirochäte ebensowenig festzustellen, wie für die früher von verschiedenen Autoren gefundenen Bakterien. Wir können nirgends den sicheren Beweis geben oder gewinnen, daß die Gewebsveränderungen überhaupt unter irgend einer Einwirkung der Spirochäte stehen; man sieht sie wohl, aber daß und wie die die verschiedenen Perioden der Syphilis charakterisierenden pathologisch-anatomischen Veränderungen von ihr abhängig, von ihr hervorgerufen sind, das hat noch niemand gesehen, geschweige in überzeugender Weise beweisen können. Ja es sind sogar wiederholt die Spirochäten direkt in der Invasionsstelle vermißt und erst in den tieferen Gewebsteilen oder in den infizierten Drüsen gefunden worden, übrigens hier wie in anderen Organen zugestandenermaßen so ungleich, oft reichlich, oft außerordentlich spärlich, und niemals in einer greifbaren Beziehung zu den typischen Gewebsveränderungen, daß alle diese Tatsachen doch

kaum geeignet sind, die bisherigen Ueberzeugungen von der ätiologischen Bedeutung der Spirochäten für die Syphilis wesentlich zu unterstützen. Wenn gleichwohl diese Ueberzeugung fast allgemein festgehalten wird, so kann man das nur unter dem Eindrucke einer Art Massenhypnose verstehen, von welcher zeitweilig die Menschen auch auf den streng wissenschaftlichen Gebieten ergriffen wurden, auf welchen man sonst nur der strengen, objektiven, Schritt für Schritt bewiesenen Forschung Gehör zu geben pflegt.

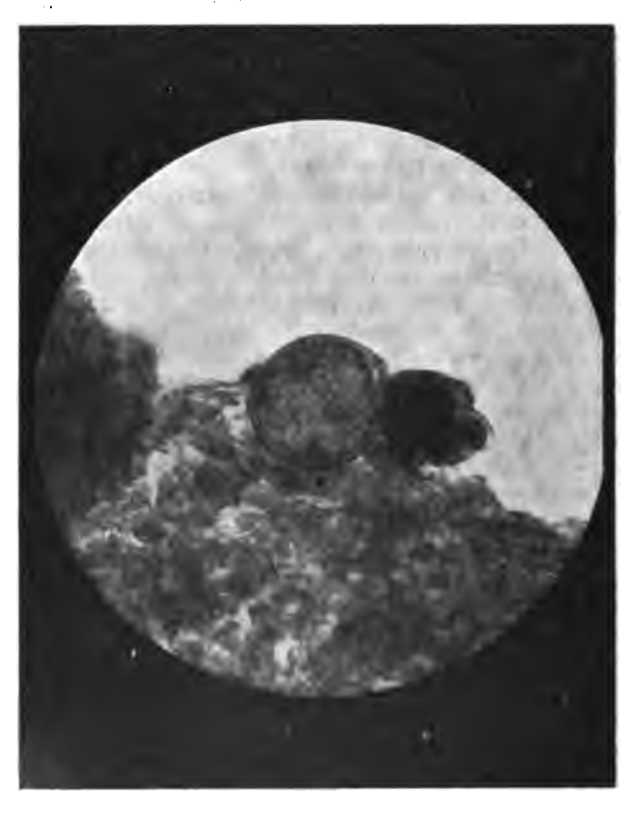


Fig. 1. Nach dem ungefärbten, in konzentrierter Ammonium muriaticum-Lösung aufgehobenen Schnitte eines syphilitischen Oberlippenschankers. Große Sporencysten an der Invasionsstelle, darunter weniger deutlich kleinere. Photogramm C. Zeiss, 2500-fache Vergr.

Im Gegensatz zu den Spirochäten sind dagegen meine protozoischen, zu den Sporozoen gehörenden Parasitenformen von mir an der ersten Infektionsstelle, in der primären Sklerose, resp. im harten Schanker, so regelmäßig und nachweisbar in Gängen und Räumen direkt beschränkt auf die schmale Zone der Infektion vorhanden, daß sich schon damit die Vorstellung einer innigen Beziehung zur Infektion verbinden muß. Besonders in wenig veränderten, noch relativ frischen primären Indurationen habe ich vielfach von einem einzigen oder von einigen wenigen Punkten dieser kleinen engbegrenzten Stelle ausgehend feine, gelegentlich breiter werdende Räume oder Gänge

das männliche Element repräsentierenden spermatozoenartigen Geißelkörperchen. Auf dem einen ist ein Gefäßquerschnitt mit Mikrogameten bei einer Vergrößerung von 1000 im Gerinnsel abgebildet. Auf dem anderen (Fig. 5) der Querschnitt eines Ganges mit Mikrogameten und Mikrogametocyten bei 2500. Man sieht bei beiden, besonders bei dem letzteren, sehr deutlich die Geißelfäden und die dunklen ovalen Kopfteile der Mikrogameten. Ebenso lassen sich einige Mikrogametocyten mit austretenden Mikrogameten deutlich unterscheiden. Die Färbung dieser Schnitte ist Hämatoxylin-Eosin.

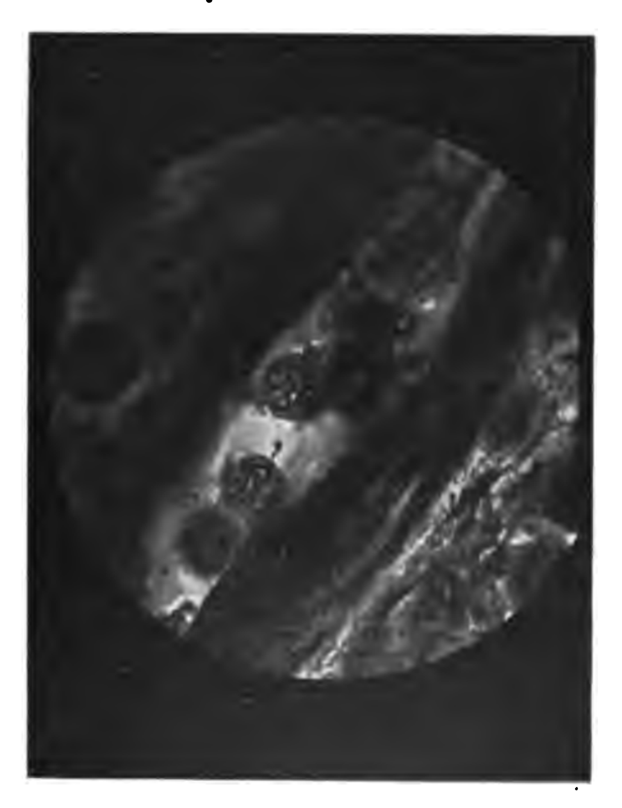


Fig. 4. Aus einem mit Indigokarmin-Oxalsäure gefärbten Schnitte eines syphilitischen Vorhautschankers. Querschnitt eines Ganges oder Spaltes mit kleinen Sporenformen mit Sprößlingen, an letzteren dreigeteilte Chromatinzeichnung erkennbar. Photogramm C. Zeiss, 2500-fache Vergr.

Die wahre Bedeutung dieser Bildungen für die Entwickelungsgeschichte der Parasiten habe ich schon vor Jahren in Kulturen erkannt, davon auch früher schon gelegentlich (1903) Mitteilung gemacht (Dermatolog. Zeitschr. Bd. X). Ich konnte dann auch die weiteren Entwickelungsformen genau feststellen. Es findet sich also auch hier neben der Schizogonie eine Sporogonie.

Für die aus der geschlechtlichen Vermehrung hervorgehenden Sporozoiten, über deren Formen ich schon im Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infekt. Bd. XL. 1906. p. 463 Mitteilung gemacht habe, kann ich gleichfalls sehr schöne Photogramme nach Kulturen bieten.

In zu Kulturen benutzten Sklerosen werden diese großen Sporenformen nach Zerfall des Gewebes frei. Sie zeigen dann Bewegungen, Rotationen wie Kontraktionserscheinungen. Schließlich treten nach dem Platzen der Hülle die kleineren Innenkörper heraus. Von diesem Stadium gibt Photogramm Fig. 3 ein Bild. Man sieht nahe der Mitte noch eine leere große Sporenhülle, ringsum zahlreiche aus solchen ausgetretene kleinere Innenkörper. Es sind kleine schizogonische Sporenformen, deren Details die verwendete Eosinfärbung nicht scharf hervortreten läßt.



Fig. 3. Aus der Kultur von einer primär syphilitischen Sklerose. Schizogonie. Eosinfärbung. Photogramm C. Zeiss, 1500-fache Vergr.

Solche Sporenformen mit kleinen ovalen Sprößlingen, an welchen bei differenzierter Färbung wieder Chromatinanschwellungen mit diese verbindenden feinen Linien zu erkennen sind, sind im Schankergewebe auch in Gängen und Räumen vorhanden. Das Photogramm Fig. 4 gibt ein solches Bild (nach einem in Indigokarmin gefärbten Schnitte) bei 2500-facher Vergrößerung.

Nach Erschöpfung der schizogonischen Teilung der Parasiten kommt es hier zur Ueberleitung in die geschlechtliche Vermehrung. Hiervon kann ich auf zwei Photogrammen von verschiedenen Schankern Bilder geben, nämlich speziell von den Mikrogameten, das sind die

das männliche Element repräsentierenden spermatozoenartigen Geißelkörperchen. Auf dem einen ist ein Gefäßquerschnitt mit Mikrogameten bei einer Vergrößerung von 1000 im Gerinnsel abgebildet. Auf dem anderen (Fig. 5) der Querschnitt eines Ganges mit Mikrogameten und Mikrogametocyten bei 2500. Man sieht bei beiden, besonders bei dem letzteren, sehr deutlich die Geißelfäden und die dunklen ovalen Kopfteile der Mikrogameten. Ebenso lassen sich einige Mikrogametocyten mit austretenden Mikrogameten deutlich unterscheiden. Die Färbung dieser Schnitte ist Hämatoxylin-Eosin.

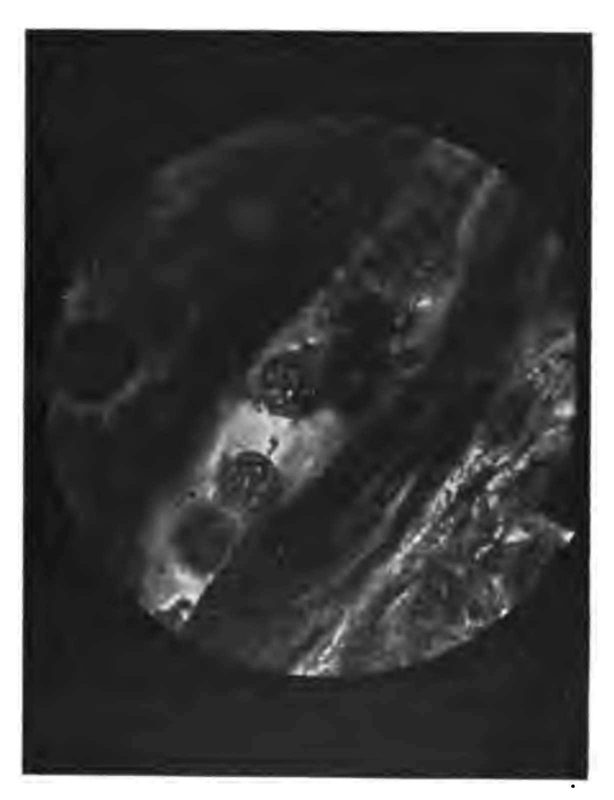


Fig. 4. Aus einem mit Indigokarmin-Oxalsäure gefärbten Schnitte eines syphilitischen Vorhautschankers. Querschnitt eines Ganges oder Spaltes mit kleinen Sporenformen mit Sprößlingen, an letzteren dreigeteilte Chromatinzeichnung erkennbar. Photogramm C. Zeiss, 2500-fache Vergr.

Die wahre Bedeutung dieser Bildungen für die Entwickelungsgeschichte der Parasiten habe ich schon vor Jahren in Kulturen erkannt, davon auch früher schon gelegentlich (1903) Mitteilung gemacht (Dermatolog. Zeitschr. Bd. X). Ich konnte dann auch die weiteren Entwickelungsformen genau feststellen. Es findet sich also auch hier neben der Schizogonie eine Sporogonie.

Für die aus der geschlechtlichen Vermehrung hervorgehenden Sporozoiten, über deren Formen ich schon im Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infekt. Bd. XL. 1906. p. 463 Mitteilung gemacht habe, kann ich gleichfalls sehr schöne Photogramme nach Kulturen bieten.

Martini u. Lentz, Die Differenzierung der Ruhrbacillen mittels der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLI. 1902.)
Lentz, Vergleichende kulturelle Untersuchungen über die Ruhrbacillen, nebst einigen Bemerkungen über den Lackmusfarbstoff. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLI. 1902.)
— —, Weitere Beiträge zur Differenzierung des Shiga-Kruseschen und des Flexnerschen Bacillus. (Ibid. Bd. XLIII. 1903.)
Leiner, Ueber bacilläre Dysenterie, speziell im Kindesalter. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 25 u. 26.)
Jürgens, Untersuchungen über die Ruhr. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LI. 1904.)
Jehle und Charleton, Ueber epidemische und sporadische Ruhr im Kindesalter. (Zeitschr. f. Heilk. 1905.)
Dörr, Beitrag zum Studium des Dysenteriebacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XLIII. 1903.)
Kraus, Ueber den derzeitigen Stand der Dysenterieätiologie und -therapie. (Monatsschr. f. Gesundheitspfl. 1904.)
Kraus u. Dörr, Ueber experimentelle Therapie der Dysenterie. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 42; 1906. No. 30.)
Hiss, On fermentative and agglutinative characters of bacilli of the dysentery group. (Journ. of med. research. Vol. XIII. 1904.)
Liefmann und Nieter, Ueber Ruhr bei Irren. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 43.)
Park, Collins and Goodwin, The dysentery bacillus group and the varieties which should be included in it. (Journ. of med. research. Vol. XI. 1904.)

Ueber die Empfänglichkeit der Fleischfresser (Hund) und der Wiederkäuer für experimentelle Syphilis[1]).

[Aus dem Institut für Hygiene der Universität Turin.]

Von Dr. **E. Bertarelli**, Privatdozenten.

Als ich im Januar dieses Jahres die Resultate meiner Versuche über das Kaninchenübergangsvirus und über die positiv ausgefallenen Einimpfungen desselben auf Affen und Kaninchen beschrieb, teilte ich meine Vermutung mit, daß man durch das Kaninchenvirus eine Hornhautsyphilis bei vielen Säugetieren verursachen könne.

Meine Vermutung scheint mir nun zur Sicherheit geworden zu sein, und auf Grund der Versuche, über deren Resultate ich hier berichten werde, kann ich schon behaupten, daß das Uebergangsvirus der Hornhautsyphilis im stande ist, eine experimentelle Augensyphilis bei verschiedenen Säugetieren zu erzeugen, und daß diese Tatsache vorläufig für den Hund und das Schaf mit Sicherheit festgestellt ist.

Ich berichte kurz über die von mir ausgeführten Versuche. Obwohl in geringer Zahl, sind dieselben so beweisend, daß sie jeden Zweifel über die Sache ausschließen.

Am 27. Jan. inokulierte ich mit kleinen, frisch bereiteten Stückchen aus der Hornhaut eines Kaninchens mit Syphilis 7. Ueberganges einen ziemlich großen Hund und ein Schaf.

1) Mitteilung in der kgl. Accademia di Medicina von Turin, in der Sitzung vom 16. Febr. 1907, wobei die Versuchstiere gezeigt wurden.
Kurz nach dieser Mitteilung wurde mir von Dr. Hoffmann angezeigt, daß ihm auch die Infizierung des Hundes gelungen ist, was er bei einer Sitzung der Deutschen med. Gesellschaft Ende Februar 1907 mitgeteilt hat.

Die Impfung wurde in der üblichen Weise ausgeführt: Ein kleines Stückchen der Hornhaut, von der Größe der Hälfte eines Stecknadelkopfes, wurde, nachdem es in einer sterilen Kochsalzlösung gewaschen worden war, in die Vorderkammer des Auges des Versuchstieres eingeführt. Bei einem der Augen des Hundes beschränkte ich mich darauf, daß ich die Hornhaut etwas wund machte (Skarifikation), und daß ich auf die Wunde etwas Hornhautmaterial strich.

4 Tage nach der Operation war jedes Zeichen der lokalen Reizung verschwunden, und man konnte kaum den Punkt, wo die Inzision der Hornhaut gemacht worden war, unterscheiden. Nach 8 Tagen war keine Spur der Verletzung mehr sichtbar, abgesehen von einem geringen weißlichen Streifen in der Nähe des Limbus.

Am 12. Febr. (16 Tage nach der Einimpfung) zeigten aber beide Tiere Erscheinungen, welche zu keinem Zweifel Anlaß geben konnten. In der Nähe der Impfstelle erschien die Conjunctiva sclerae injiziert und die Hornhaut erhaben und etwas getrübt. Einige Tage später ließ die Läsion keinen Zweifel mehr: die Keratitis dehnte sich auf eine bedeutende Fläche aus, obwohl sie anscheinend, besonders bei dem Schaf, nur eine gut begrenzte Zone in der Nähe der Einimpfungsstelle einnahm. Bei dem Hunde war dagegen die Reaktion eine viel lebhaftere, und das Syphilom dehnte sich aus und wurde deutlicher sichtbar.

Die Läsionen waren sowohl bei dem Hunde wie bei dem Schafe in einem Auge ausgesprochener als in dem anderen. Besonders beim Hunde beobachtete man eine auf der Oberfläche der Sklera und der Hornhaut deutlich hervortretende Bindegewebsneubildung, welche allmählich zunahm und von einer ausgesprochenen Gefäßneubildung begleitet wurde.

Am 3. März war bei dem Hunde die Läsion sehr ausgedehnt, und es wurde das Auge exstirpiert. Mit einem Teile der verletzten Hornhaut wurden Einimpfungen auf Kaninchen ausgeführt; mit dem übrigen Teile wurden mikroskopische Ausstrich- und Quetschpräparate bereitet.

Dem Schaf wurde auch das Auge exstirpiert und die Hornhaut teils zu Einimpfungen auf Kaninchen, teils zu histologischen und bakteriologischen Untersuchungen gebraucht.

Der Befund war dabei ein konstanter; der biologische Versuch mit den Kaninchen hatte sowohl mit der Hunde- wie mit der Schafhornhaut einen unzweifelhaft positiven Ausgang.

Desgleichen war der Spirochätenbefund sowohl in den Gewebsschnitten wie bei dem Hunde in den ohne Färbung untersuchten Quetschpräparaten ein positiver.

Diesbezüglich muß ich bemerken, daß nach diesem Nachweis der Spirochäten in den Hornhautausstrichpräparaten und in den Hornhautfrischpräparaten (betr. der ersteren scheint mir Schucht zuerst den Versuch ausgeführt zu haben) mir jede Diskussion über die wirkliche Natur der mit Silber durchtränkten Spirochäten, wenigstens bezüglich der Tatsache der wirklichen Anwesenheit von Spirochätenformen in den infizierten Hornhäuten, überflüssig scheint.

Der histologische Befund zeigte nichts Eigentümliches; auch hier hatte man, wie sonst beim Kaninchen, eine Leukocyteninfiltration.

Die Reaktion war ohne Zweifel nicht eine so lebhafte, wie bei dem Kaninchen, auch die Spirochäten erschienen mir nicht so zahlreich, wie ich bei einigen Exemplaren von Kaninchensyphilis zu beobachten Gelegenheit gehabt hatte. Ich bemerke hier, daß in der Hornhaut des

Wie diese kurze Uebersicht, welche leicht vermehrt werden könnte, lehrt, sind die wichtigsten Phasen des Syphilisprozesses und die sie begleitenden charakteristischen Gewebsveränderungen stets gebunden an bestimmte Entwickelungsphasen und Formen der von mir festgestellten sporozoischen Parasiten. Man hat keine Schwierigkeit, zu schlußfolgern, daß die typischen Perioden und das charakteristische Auftreten der Syphilis mehr oder weniger direkt geknüpft ist an die Aufeinanderfolge der Entwickelungs-



Fig. 7. Aus einem mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitte eines syphilitischen Lebergummis. In den Leberzellen kleine, blasenförmige Sporenformen. Photogramm C. Zeiss, 2500-fache Vergr.

stadien der Parasiten. Die einen bedingen die anderen. Engere Beziehungen zwischen bestimmten Krankheitserscheinungen und den ursächlichen parasitären Erregern dürften sich kaum künstlich konstruieren lassen, vielleicht auch bei wenigen anderen parasitären Krankheiten feststellen lassen, wie wir sie schon jetzt bei der Syphilis und meinen sporozoischen Parasiten sehen können.

Bei den wenigen Uebertragungsversuchen auf Tiere (speziell Kaninchen) habe ich stets die gleichen Parasiten und zwar in den gleichen Beziehungen ihrer Entwickelungsformen zu den Zellen und Gewebsveränderungen gesehen. Nach meiner Ueberzeugung ist die

Uebertragung der Syphilis bedingt durch die Uebertragung resp. Ueberimpfung dieser sporozoischen Parasiten, sei es in der schizogonischen oder in der sporogonischen Periode der Entwickelung.

Ob dabei die, wie ich vorläufig annehme, mit übertragenen Spirochäten von irgend einer besonderen Bedeutung sind für den Syphilisprozeß an sich, muß ich dahingestellt sein lassen. Keinesfalls scheinen sie mir eine notwendige Rolle bei den verschiedenen Stadien und Gewebsveränderungen zu spielen.

Nach meinen bisherigen Beobachtungen über meine sporozoischen Parasiten der Syphilis in Kulturen und Schnitten ist es wohl möglich, auch für sie den Entwickelungskreis nach Schizogonie (einfache Teilungsvermehrung) und Sporogonie (geschlechtliche Vermehrung) schon jetzt fast vollkommen festzustellen. Eine noch genauere parasitologische Prüfung der einzelnen Stadien der Syphilis wird ohne Schwierigkeit die engen Beziehungen beider überall in das vollste klare Licht setzen.

Nochmals zur Pallida-Kritik des Herrn Saling.

Von Dr. **Max Wolff**, Bromberg,
wissenschaftl.-technischem Hilfsarbeiter am Kaiser-Wilhelm-Institut für Landwirtschaft

Zwar nennt Saling in seiner Erwiderung in Heft 3. Bd. XLIII dieses Centralblattes meine Kritik seiner *Pallida*-Arbeit „das Schwächste, was je auf diesem Gebiete geleistet worden ist". Der Ton seiner Erwiderung zeigt mir jedoch, daß selbst meine schwächste Kritik Saling da getroffen hat, wo ich ihn treffen wollte. Ich ergreife daher nur das Wort, um die sachlichen, auf Wortlaut und Sinn meiner Kritik sich beziehenden Unrichtigkeiten, von denen Salings Erwiderung wimmelt, zu rektifizieren.

Herr Saling spricht davon, mehr als die Hälfte meiner Arbeit sei eine „Abschrift" seiner Kritik. Ich überlasse es dem Urteil des Lesers, zu entscheiden, inwieweit der Ausdruck „Abschrift" gerechtfertigt ist. Allerdings meine ich — das ist sine ira et studio gesagt —, daß Salings Deduktionen so absurd anmuten, der Vergleich der von den Spirochätenforschern gegebenen Abbildungen mit spiralig gewundenen Nerven- und Bindegewebsfibrillen so gewaltsam und oberflächlich erscheint, daß ich mir in der Tat an mancher Stelle sagte, daß hier die wortgetreue Reproduktion von Salings Worten schon allein genügt hätte, ihn zu widerlegen. Ich weiß nicht, was sich Saling als Motiv für das „Abschreiben" seiner Arbeit vorstellt. Und trotz seines ironischen Dankes ist es mir nach wie vor gleichgültig, was er sich eigentlich dabei gedacht haben mag. Aber das kann ich versichern, daß allein die Provenienz seiner Kritik aus dem Berliner Zoologischen Institute, die ihr ein gewisses Gewicht verlieh, mich und Andere veranlaßt hat, Stellung zu ihr zu nehmen. Um ihrem Autor volle Gerechtigkeit widerfahren zu lassen und dem Leser einen schnellen Vergleich der angezogenen Stellen mit meiner Entgegnung zu ermöglichen, habe ich Salings Kritik so ausführlich und so wörtlich wie möglich zitiert

Ich bin mir nicht bewußt, durch geringe Aenderungen, die nur die syntaktische Verbindung des Zitates mit einem fremden Satzgefüge bezwecken, seinen Sinn oder auch nur seine Klangfarbe geändert zu haben.

Dagegen befremdet die Art, wie dies Saling in ausgiebiger Weise mit meinen Sätzen tut, und zwar, um zu beweisen, daß ich den Mangel an positivem Beweismaterial durch allerhand leere Redewendungen zu bemänteln gesucht hätte. Saling zitiert jedesmal die ersten paar Worte des betreffenden Passus meiner Kritik, — den Nachsatz, der die von ihm vermißten Beweisgründe oder Hinweise enthält, vergißt er mitzuteilen.

Saling tadelt, daß ich keine Kontrollversuche angestellt hätte. Ich kann nur nochmals „versichern“, bei der Gefahr, mich wieder seinem Spotte auszusetzen, daß ich neue Kontrollversuche für überflüssig halte, wo es sich um gesicherte Tatsachen handelt. Herr Saling hat nur nötig, sich in das Berliner Anatomische oder Neurobiologische Institut zu bemühen, um sich an der Hand von Literatur und Präparaten zu überzeugen, daß zwischen den Bildern der Silberspirochäte und mazeriertem oder geschrumpftem Nerven- und Bindegewebe ein himmelweiter Unterschied besteht. Ich verweise ihn zu diesem Zwecke unter anderem auf das neueste Heft von Ramón y Cajals Studien über die Hirnrinde des Menschen [Heft 5, Leipzig (J. A. Barth) 1906] und auf Schiefferdeckers Schrift „Neurone und Neuronbahnen“ (ebenfalls Leipzig, 1906).

Da ich auch sonst keine Ursache zu haben meine, die von seiten zuverlässiger Autoren mit den Silbermethoden in Geweben des verschiedensten Erhaltungsgrades gemachten Befunde anzuzweifeln, auch selbst auf Grund meiner Erfahrungen[1]) orientiert bin, wie mit Silber imprägniertes luetisches Nerven- und Bindegewebematerial und solches von verschieden gutem und schlechtem Erhaltungszustande aussieht, so glaube ich, daß nicht viele, außer Saling, und jedenfalls nicht zu Recht, von mir besondere Kontrollversuche in dieser Richtung verlangen werden. Es ist jedenfalls eine grobe Entstellung des wahren Sachverhalts, wenn Saling resumiert: „Also nichts als bloße Behauptungen! Wer nach Beweisgründen sucht, sucht in Wolffs Kritik vergebens. Aber mit solchem „Versichern, Bestreiten etc.“ führt man doch keinen wissenschaftlichen Beweis, ebensowenig wie mit dem berühmten Gefühl fürs „Typische“!“

Was mein Urteil über die Londonschen Figuren anlangt, so kann Saling sich leicht davon überzeugen, daß es zutrifft. Er braucht zu diesem Zwecke noch nicht einmal die neueste Literatur einzusehen. Wie die in Frage kommenden Bildungen bei unvollständiger Imprägnation aussehen, zeigen z. B. die Abbildungen van Gehuchtens und anderer Autoren aus den letzten 3 Jahren aufs deutlichste.

Ob andere gewissenhafte Schriftsteller sich ebenso wie Saling über meine Bemühungen würden „amüsiert“ haben, nachzuweisen, daß der Gegner nicht so kompetent in neurohistologischen Dingen ist, wie er meint, also nicht so ohne weiteres zu den Vergleichen und Schlußfolgerungen berechtigt ist, die er zieht, — das erscheint mir doch frag-

1) Wie gewiß die meisten anderen Neurologen auch! In größeren Städten bekommt man ja häufig die Produkte künstlicher Aborte in traurig mazeriertem Zustande und hat auch ausreichende Gelegenheit, sie mit luetischem Material zu vergleichen.

lich zu sein. Ich erwarte ruhig das Urteil Anderer, ob ich mit den betreffenden Ausführungen die Leser des Centralblattes gelangweilt habe oder nicht. Wenn Saling von einer Auseinandersetzung in „breiter Rede“ spricht, so ist das wieder eine von den Entstellungen des Sachverhaltes, die ihm fast durchgängig in seiner Entgegnung als Kampfmittel dienen.

Seine zweite Mitteilung zur Kritik der *Pallida*, in der er den Begriff „Nervenendfibrillen“ schärfer definiert, ist erschienen, nachdem die Korrektur meiner Entgegnung längst erledigt war. Das ist der Grund, weshalb meine „Entrüstung“ so sehr „post festum“ gekommen ist.

Ueberhaupt irrt Saling, wenn er mir eine übernatürliche Erregtheit zuschreibt. Ich habe, abgesehen von dem Aerger über die Art und Weise und die Leichtigkeit, wie man heute an Arbeiten, von denen man erst einmal selber lernen sollte, Kritik übt, gar keinen Grund dazu gehabt, denn für mich ist der Beweis geführt, daß die Silberspiralen selbständige Organismen, keine Gewebselemente sind. Herrn Salings Sache ist es, das Gegenteil zu beweisen. Und ich bilde mir ein, daß es für mich und jeden Anderen leicht war, zu zeigen, daß ihm dieser Beweis gründlich mißglückt ist, — außer in anderen Punkten vor allem in dem, der die Silberbilder nervöser und bindegewebiger Elemente betrifft. Hat Saling besseres Material, wie er mehrfach in Aussicht stellt, noch vorzubringen, so mag er überzeugt sein, daß ich es mit aller Sachlichkeit prüfe. Aber vor der Hand besteht wirklich kein Grund, um das Geschick der Spirochäte — auch der Silberspirochäte nicht — sich Sorge zu machen.

Saling ist also gänzlich im Irrtum, wenn er meint, ich hätte im Gefühl meiner Ohnmacht versucht, ihn „mit kleinen Eigentümlichkeiten zurückzudrängen“. Welche Beziehung seine kritischen Arbeiten zur *Cytorrhyctes*-Partei haben und wie er sich zu den ersten, wenig glücklichen polemischen Versuchen Thesings stellt, das ist für unsere Sache natürlich ziemlich gleichgültig. Was ich mit meiner Bemerkung über den „objektiven Zeichner“ gemeint habe, wird kein Fachmann mißverstanden haben, der weiß, welcher Uebung des Auges es bedarf, bis man sich in gewisse Kategorieen von Präparaten, besonders wenn mit stärksten Vergrößerungen gearbeitet wird, „hineingesehen“ hat. Daß endlich Saling mich zu verdächtigen versucht, als hätte ich die Objektivität des Herrn Prof. Botezat in Zweifel stellen wollen, weise ich mit aller Entschiedenheit zurück.

Meinen Bemerkungen über Salings Stellungnahme zur Giemsa-Epoche habe ich nur hinzuzufügen, daß in diesem Punkte Saling in nächster Zeit von maßgebender Seite entgegnet werden wird.

Weder mir noch Anderen, die sich glücklich schätzen, in persönliche Beziehung zu dem genialen Entdecker der *Pallida* getreten zu sein, und seitdem in ihm einen der edelsten, besten Menschen verehren, ist es eingefallen, ihn zum Götzen einer Clique zu machen oder seine Unfehlbarkeit zu behaupten. Aber ich meine, es kann der wenig Pietätsgefühl besitzen, der das aus den Worten eines einzigen von uns herausliest. Und ich behaupte, Saling hat mit den Worten auf Seite 231 unten („Wolff meint, man könne ja auch . . .“) bis auf Seite 232 Mitte („oder gar als „Tempelschänder“ [Hartmann und Prowazek] hingestellt wird!“) sein wahres Gesicht gezeigt. Sapienti

sat! Saling muß wissen, warum er mit einem Male von „Phantastereien und Sophistereien“ redet. Dies und sein Bedauern über die ihm auferlegten „Einschränkungen“ scheint mir allerdings die scharfen Worte Winters, wie Hartmanns und Prowazeks ganz und gar zu rechtfertigen.

Meine Worte, die ironisch gemeint sind, — ich konnte mir angesichts der Londonschen Bilder wirklich nicht helfen —: „Bedenklich ist freilich, was Saling .... nach einer Arbeit von London darstellt“, sind von Saling mißverstanden, wie ihm eigentlich aus dem Zusammenhange hätte klar werden sollen. Was den Passus: „Selbst der Nachweis, daß Levaditi etc.“ anlangt, muß ich fast glauben, daß Saling nicht verstehen will, was ich meine.

Herr Saling stellt mir zum Schluß die Aufgabe, einen dreifachen Nachweis zu führen, um „ernst genommen“ zu werden. No. 1 wird, wie gesagt, demnächst von anderer Seite geführt werden[1]). No. 2 ist in den Arbeiten Schaudinns und Hoffmanns und zahlreicher anderer Autoren längst geführt, und die positive Antwort auf die dritte Forderung kann sich Saling heute bei jedem erfahrenen Kliniker selbst holen.

Da die letzten kritischen Mitteilungen Salings über die Silberspirochäte nichts, was gegenüber seiner früheren kritischen Methode prinzipiell neu wäre, enthalten, halte ich es für überflüssig, zu ihnen Stellung zu nehmen.

Für seine Behauptung, daß die Silberspirochäten identisch seien mit gewissen unvollständig erhaltenen oder unvollständig dargestellten Gewebselementen, ist Saling nach wie vor den Beweis durchaus schuldig geblieben.

Bilharzia-Würmer bei Rindern in Sumatra.

Von **A. Vryburg**, Tierarzt in Medan, Deli-Sumatra.

Mit 1 Tafel.

Im Leberblut von Rindern in Deli-Sumatra kann man ziemlich oft Bilharzien antreffen.

Sie verursachen, meines Wissens, während des Lebens keine Krankheitssymptome, werden also nur zufällig bei der Sektion gefunden.

Man kann die Würmer auf die bekannte Weise sammeln, wenn man aus der frisch herausgenommenen Leber das Blut in eine flache Glasschale fließen läßt, in dünner Schicht ausbreitet und durch Massieren und Drücken das Austreten des Blutes fördert.

Weiter traf ich die Würmer im Blute der Mesenterialgefäße. Gewöhnlich waren im ganzen nur wenige Exemplare zugegen, bei einem Zebu aber, welches wegen Alters und Blindheit geschlachtet wurde, flossen mit dem Leberblut ca. 150 Stück ab; außerdem sammelte ich noch 13 aus den Darmgefäßen.

1) NB. Soweit es sich um die färberische Darstellung der *Pallida* mit Anilinfarben handelt! Nur hierauf kann es noch ankommen.

Unter diesen 150 Würmern waren nur 3 Pärchen und bei den übrigen 13 auch 3, die anderen waren Männchen. Die meisten Weibchen waren jung, nur ein paar hatten Eier im Körper. *Bilharzia*-Eier fand ich ein paar Mal in dem Kot der Rinder und öfters unter der Darmmucosa, im Coecum, Colon und Duodenum. Die Darmmucosa sah makroskopisch nicht verändert aus, in der Submucosa waren kleine Blutungen, und wenn man diese Stellen abkratzte und unter dem Mikroskop bei 50-facher Vergrößerung durchmusterte, fand man die Eier entweder vereinzelt oder mehrere zusammen (einmal 8 in einem Gesichtsfeld). Die Blasenschleimhaut war makroskopisch normal; hier so wenig wie im Urin fand ich Eier.

Die männlichen Würmer präsentieren sich dem Auge als kleine, etwas abgeflachte, weißliche Fäden, welche sich in eben abgeflossenem Blute bewegen und in physiologischer NaCl-Lösung beinahe 24 Stunden lebend bleiben.

Die Männchen haben eine unebene, rauhe Oberhaut, einen Kopf-, und einen Bauchsaugnapf und an der Bauchfläche zwei über die ganze Länge des Wurmes sich erstreckende, parallele Falten, die sich übereinander legen und so den Canalis gynaecophorus bilden. Dieser dient zur Aufnahme des Weibchens. Die Weibchen sind viel feiner und daher im Blute schwer zu sehen.

Unter dem Mikroskop gesehen, ist die Farbe der Männchen hellbraun, die der Weibchen mehr grau. — Bei beiden springt der bei Füllung schwarze, in Zickzacklinie laufende Darmkanal sehr ins Auge. Die Länge und Breite der gefundenen Exemplare war sehr verschieden, je nach dem Alter. Auch bei ein und demselben Wurm wechseln die Dimensionen jeden Augenblick, je nachdem der Körper mehr oder weniger gestreckt oder eingezogen ist.

Durch wechselnde Muskelkontraktionen und Erschlaffungen treten knotenartige Verdickungen und Verdünnungen des Leibes auf. Man kann daher nur schwierig Messungen vornehmen.

Die toten Würmer sind meistens zusammengezogen. Bei lebenden, in Blut oder physiologischer NaCl-Lösung untersuchten Würmern fand ich die folgenden Maße:

Männchen: Körperlänge 11,17 mm, Mundsaugnapf 0,300 mm Längen- und 0,250 mm Breitendurchmesser, Bauchsaugnapf 0,267 mm Durchmesser, Mitte des Bauchsaugnapfes bis Vorderende des Körpers (bei ausgestrecktem Mundsaugnapf) 0,767 mm, Körperbreite hinter dem Mundsaugnapf 0,233 mm, auf der Höhe des Bauchsaugnapfes 0,383 mm, hinter dem Bauchsaugnapf 0,233 mm, weiter nach hinten 0,700 mm, hinteres Ende 0,200 mm. Bei einem anderen Männchen war die Körperlänge 12,20 mm.

Ein junges Weibchen ohne Eier im Körper war 7,250 mm lang, Distanz von der Mitte des Bauchsaugnapfes zum Vorderende des Körpers 0,233 mm, Körperbreite am Vorderende 0,034 mm, weiter nach hinten 0,100 mm mit abwechselnd schmalen Stellen von 0,083 und breiteren von 0,133 mm (bis 0,166 mm an einer Stelle).

Bei Würmern, die in Glycerinalkohol aufbewahrt waren, fand ich bei

Männchen	4,5	mm	Länge	und	0,250	mm	größte Breite,
„	4,583	„	„	„	0,633	„	„ „
„	5,833	„	„	„	0,483	„	„ „
„	7,5	„	„	„	0,667	„	„ „

und bei einem Weibchen mit Eiern im Körper 7,167 mm Körperlänge und größte Breite (an der Vereinigungsstelle der Darmschenkel) 0,175 mm.

Die Eier sind sehr groß und ihre Form sehr eigentümlich. Sie bestehen aus einem breiten Zentralstück und zwei schmalen Enden, wovon das eine stumpf, das andere in einen scharfen Dorn endet.

Die Länge der Eier beträgt 0,258—0,333 mm, die größte Breite 0,050—0,067 mm.

Bei einem Ei von 0,300 mm Länge und größter Breite von 0,060 mm hatte der am Ende abgerundete Schenkel eine Breite von 0,015 und der mit dem Dorn eine Breite von 0,017 mm.

In einem Ei war eine reife Larve, welche das ganze Ei ausfüllte und nur einen Teil des Schenkels mit dem Dorn frei ließ. Unter das Deckglas gebracht, schlüpfte sie nicht aus, sondern starb ab.

Bilharzien sind von verschiedenen Forschern bei Tieren gefunden worden. Sonsino fand sie schon 1876 in Aegypten beim Rind und Schaf, später Grassi bei Schafen und Ochsen in Italien und Railliet in einer Kalbsleber, aus Cochinchina stammend. — Diese Würmer gehörten alle zu einer Sorte von *Schistosomum crassa*, kennbar durch die eigenartige Form der Eier. Im Jahre 1886 fand Bomford in Calcutta bei Schlachtochsen Schistosomeneier, welche den Eiern der beim Menschen parasitierenden *Sch. haematobium* ähnlich sahen (oval mit Dorn an einem der Pole).

Im Jahre 1905 entdeckte Montgomery in Muktesar (Britisch Indien) beim Pferde ein *Schistosomum*, das von ihm *Schistosomum indicum* genannt wurde[1]).

Beim Schaf fand er einen damit übereinstimmenden Wurm. Beim Rind sah er zwei verschiedene Sorten. Die Eier des einen Typus stimmen mit den von Bomford gefundenen Eiern überein, weshalb er den Namen *Sch. Bomfordi* vorschlug.

Die Eier der anderen Sorte glichen denen von *Sch. crassa*, waren aber bedeutend größer. Montgomery schlug für diesen Wurm den Namen *Schistosomum spindalis* vor. Der Wurm wurde nur bei zwei Ochsen gefunden, bei jedem ein kopuliertes Pärchen in den Mesenterialvenen. Die Eier wurden unter der Darmmucosa gefunden, wo sie Blutungen verursacht hatten.

Montgomery gibt an für *Sch. spindalis*: Männchen: 8,24—9,58 mm und Weibchen 14,110 mm Länge, Eier 0,304—0,316 mm lang, 0,052 bis 0,054 mm breit — idem (mit Larve) 0,364—0,400 mm lang und 0,068 bis 0,072 mm breit, Breite der Schenkel 0,012—0,014 mm.

Die Beschreibung und Größe der Männchen und Eier der *Sch. spindalis* stimmt ungefähr überein mit dem von mir gefundenen Wurm, nur sind die Sumatra-Weibchen kleiner. Jedoch glaube ich, daß wir es mit demselben Parasiten zu tun haben, weil die Form der Eier genau dieselbe ist.

Für *Bilharzia crassa* fand ich in der Literatur: Männchen 14 mm, Weibchen 20 mm und Eier 0,160—0,180 mm lang. Die Eier sind also um die Hälfte kleiner, auch die Form ist verschieden und der Stachel an einem Pole herzförmig (während der Stachel beim *Sch. spindalis*-Ei und beim Ei des Sumatra-Wurmes dornförmig ist). Sie sind also leicht

1) Montgomery, R. E., Observations on Bilharziosis among animals in India. (Journ. of tropical veterinary science. Vol. I. Calcutta 1906.)

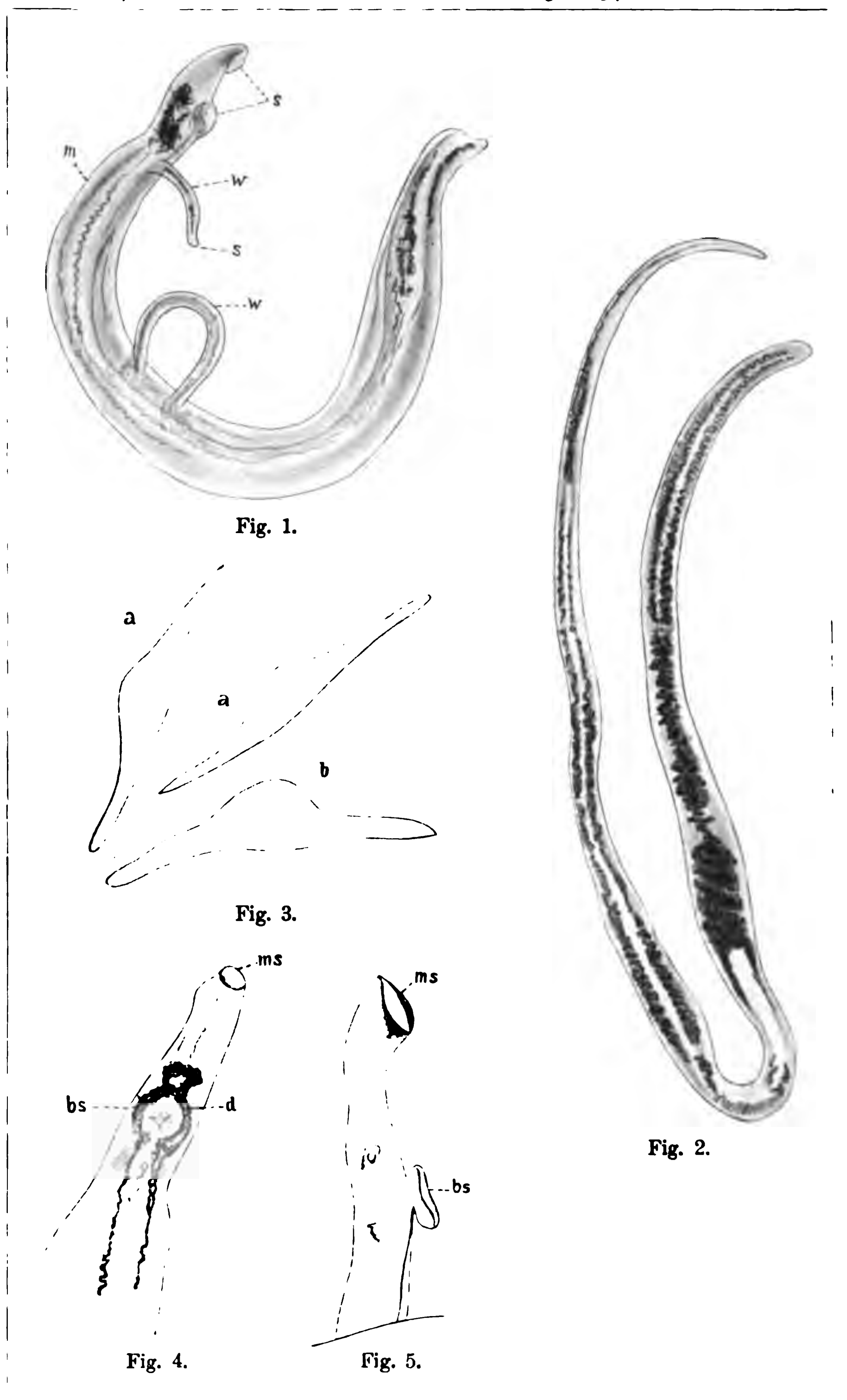


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Verlag von **Gustav Fischer in Jena.**

zu unterscheiden von den von mir gefundenen, die ich mit dem *Sch. spindalis* (Montgomery) identifiziere.

Deli (Sumatra), Dezember 1906.

Erklärung der Abbildungen.

Schistosomum spindalis.

Fig. 1. Pärchen in copula. (Vergr. 15—20mal.) *m* = Männchen, *w* = Weibchen, *s* = Saugnapf.

Fig. 2. Weibchen. (Vergr. 35—40mal.)

Fig. 3. Eier. (Vergr. 175mal.) a = unreife, b = mit Larve.

Fig. 4. Kopfende des Männchens (von der Rückenfläche gesehen). (Vergr. ca. 35mal.) *ms* = Mundsaugnapf (eingezogen), *bs* = Bauchsaugnapf, *d* = Darm.

Fig. 5. Kopfende des Männchens (von der Seite). (Vergr. ca. 40—50mal.)

(Die Abbildungen sind nach der Natur mit dem Abbeschen Zeichenapparat gezeichnet.)

Nachdruck verboten.

Ueber Angriffsstoffe (Aggressine).

[Aus dem hygienischen Institut in Bonn.]

I. Mitteilung.

Von Dr. **Pane** und Dr. **Lotti**.

(Schluß.)

Um über die Giftigkeit der durch Chloroform abgetöteten Dysenteriebacillen klar zu werden, wurde ein Meerschweinchen mit $^1/_8$ durch Chloroform abgetöteten Kultur nach vorheriger Verdunstung des Chloroforms injiziert.

$M_{11}a$, 300 g, erhält $^1/_8$ einer durch Chloroform abgetöteten Kultur i. p. Nach 8 Minuten sehr zahlreiche Keime sichtbar, wenig Leukocyten. Nach 20 Minuten zahlreiche Leukocyten, fast sämtlich mehrkernig. Nach 3—4 Stunden sah das Tier krank aus, zeigt sich bis 20 Stunden nach der Injektion niedergeschlagen, nach 2 Tagen scheint es sich erholt zu haben, stirbt aber nach 4 Tagen unter Abmagerung.

Nachdem die toxische Wirkung des Kulturextraktes der Dysenteriebacillen untersucht worden, wollten wir zum Studium des aggressiven Einflusses übergehen, um zu ermitteln, ob bei Einführung dieses Extraktes mit einer weit hinter der akut tödlichen Dosis stehenden Menge ($^1/_{10}$ Agarkultur) von Dysenteriebacillen eine Vermehrung der injizierten Keime stattfinde, und die Art und Weise dieses Einflusses zu beobachten. Es ergab sich, daß man dadurch eine sehr starke aggressive Wirkung hervorrief.

M_1, 280 g, gleichzeitige Einspritzung des Extraktes einer Kultur (1 ccm) + $^1/_{1000}$ einer lebenden Kultur. Eine Normalöse Peritonealflüssigkeit zeigt nach 30 Minuten 15000 Keime; nach 4 Stunden 60000 Keime; nach 14 Stunden 180000 Keime. Die mikroskopische Untersuchung des Exsudats im hängenden Tropfen und in gefärbten Präparaten ergibt massenhafte Bacillen und keine Leukocyten. Das Tier stirbt nach 14 Stunden.

Im Netze, auf Deckglas aufgespannt, in Alkohol fixiert und mit Loefflerscher Methylenblaulösung gefärbt, sind sehr zahlreiche, massenhaft angehäufte Leukocyten wahrnehmbar. Spärliche Phagocytose. Nach dem Tode enthalten 3,5 ccm Peritonealflüssigkeit im ganzen 600 Millionen Keime; $^1/_2$ des Netzes 30000 Keime; 1 ccm Blut 1200 Keime; 1 g Lunge 600000 Keime; 1 g Niere 1000 Keime; 1 g Leber 45000 Keime. (Eingespritzt waren etwa 20 Millionen Keime.)

M_2, 300 g, gleichzeitige Einspritzung von $^1/_8$ ccm Extrakt + $^1/_{1000}$ lebender Kultur i. p. Eine Normalöse der Peritonealflüssigkeit enthält nach 30 Minuten 7500 Keime;

nach 3 Stunden 45000 Keime; nach 10 Stunden 375000 Keime. Das Tier stirbt nach 10 Stunden; 4 ccm Peritonealflüssigkeit enthalten $1^1/_2$ Milliarde Keime, keine Leukocyten; auf dem Netze Anhäufung von Leukocyten, geringe Phagocytose.

M_3, 250 g, gleichzeitige Einführung von 1 ccm Extrakt + $^1/_{10000}$ lebender Kultur. Das Tier stirbt nach 12 Stunden unter ungeheurer Vermehrung der Keime. Eine Normalöse Peritonealflüssigkeit enthält nach 20 Minuten 400 Keime; nach 5 Stunden 30000 Keime nach 8 Stunden 120000 Keime. Verschwindend wenig Leukocyten im Exsudat. Auf dem Netze Anhäufungen von Leukocyten mit äußerst geringer Phagocytose. 1 ccm Peritonealflüssigkeit enthält nach dem Tode 400 Millionen Keime.

M_4, 250 g, erhält den Extrakt von einer Kultur in 4 ccm KSW. aufgeschwemmt + $^1/_{100}$ lebender Kultur i. p. Nach 1 Stunde gewahrt man in der mittelst Kapillar entnommenen Peritonealflüssigkeit wenige Bacillen und recht spärliche Leukocyten; nach 4 Stunden sehr zahlreiche Bacillen, Leukocyten nicht vorhanden. Das Tier stirbt nach 12 Stunden. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 220 Keime; nach 4 Stunden 225000 Keime; nach 12 Stunden 775000 Keime. Nach dem Tode werden $2^1/_2$ ccm Peritonealflüssigkeit gesammelt, die im ganzen 1 Milliarde 406 Millionen Keime enthalten. Im Netz ungefähr 30 Millionen; 1 ccm Blut 76000 Keime; 1 g Lunge 100000 Keime; 1 g Leber 30000 Keime. Gefärbte Präparate der Peritonealflüssigkeit zeigen sehr zahlreiche Bacillen und äußerst wenig Leukocyten. Präparate des Netzes sehr zahlreiche Bacillen, spärliche Leukocyten und hier und da einzelne Phagocyten.

Unter dem Einfluß von 1 ccm Aggressin ist also schon der 1000. Teil der tödlichen Gabe Ruhrbacillen, der allein für sich in kürzester Zeit aus der Bauchhöhle verschwinden würde, im stande sich unaufhaltsam bis zum Tode des Tieres zu vermehren. Die Giftigkeit des Aggressins ist daran nicht schuld, denn wenn man auch eine bei weitem untertödliche Gabe des Aggressins einspritzt, erhielt man ähnliche Wirkungen (vergl. M_2), desgleichen wenn man die Giftigkeit des Aggressins dadurch herabsetzt, daß man es verdünnt anwendet (M_4).

Injiziert man nun $^1/_6$ des Extraktes einer ganzen Kultur in 1 ccm Kochsalzlösung + $^1/_{100}$ lebender Kultur, so erzielt man keine genügende aggressive Wirkung, da die Gabe des Extraktes sich unzureichend zeigt, das Tier zu töten.

M_5, 280 g, erhält $^1/_6$ Extrakt + $^1/_{100}$ lebender Kultur i. p. Das Tier zeigt allmähliche Abnahme von Bacillen, die jedoch viel langsamer vor sich geht als sonst, wenn man die gleiche Dosis Bacillen ohne Bakterienextrakt injiziert. Eine Normalöse der Peritonealflüssigkeit enthält nach 30 Minuten 30000 Keime, nach 4 Stunden 37000 Keime, nach 16 Stunden 1000 Keime. Nach 16 Stunden bemerkt man eine sehr reichliche Leukocytose im freien Exsudate, im Netze zahlreiche Leukocyten bezw. Keime, ziemlich bedeutende Phagocytose. Das Netz enthält ungefähr 19 Millionen Bacillen; 1 ccm Blut 18000 Keime, 1 g Lunge 120000 Keime.

Um festzustellen, ob unsere Extrakte zur Aeußerung ihrer Wirkung einer gewissen Inkubationszeit bedürfen, wurden Extrakt und Bacillen getrennt eingespritzt. $^1/_8$ Kulturextrakt wurde 1 Stunde vor der Einführung von $^1/_{10}$ der tödlichen Dosis lebender Keime in die Bauchhöhle injiziert. Auch in diesem Falle erzielt man eine aggressive Wirkung.

M_6, 280 g, erhält $^1/_8$ ccm Extrakt und nach 1 Stunde $^1/_{100}$ lebender Kultur i. p. Die Peritonealflüssigkeit enthält in 1 Normalöse nach 30 Minuten 75000 Keime, nach 3 Stunden 300000 Keime, nach 6 Stunden ∞. Das Tier stirbt 14—15 Stunden nach der Einspritzung.

Ist der zwischen der Injektion des Extraktes und der der Keime liegende Zeitraum größer, so findet nicht nur keine Vermehrung der Keime statt, sondern das Tier geht selbst nicht an einer einfach letalen Dosis lebender Keime zu Grunde. Die aggressive geht also in eine defensive Wirkung über. Diese Erscheinung fällt zusammen mit dem Vorhandensein einer bedeutenden Menge von Leukocyten in der Bauchhöhle des mit einer nicht tödlichen Extraktdosis behandelten Meer-

schweinchens. Die Einwanderung von Leukocyten beginnt bereits 7 bis 8 Stunden später und nimmt fortwährend zu bis ungefähr 20 Stunden nach der Injektion, so daß es wahrscheinlich diesen Leukocyten zuzuschreiben ist, wenn das Tier am Leben bleibt.

Der kürzeste dazu erforderliche Zeitraum, damit nach der Injektion des Extraktes bei Einführung einer Letaldosis lebender Keime das Tier am Leben bleibt, ist von uns nicht ermittelt worden. Wir haben nur Versuche angestellt, wobei lebende Bacillen 24 Stunden nach der Behandlung des Tieres mit einer zwar nicht tödlichen, aber sonst noch immer hinreichenden Dosis aggressiven Extraktes i. p. injiziert wurden.

M_7, 280 g, erhält den Extrakt von $^1/_8$ Kultur von Dysenteriebacillen i. p.; 24 Stunden darauf $^1/_{10}$ lebender Kultur. Die Peritonealflüssigkeit enthält in 1 Normalöse nach 30 Minuten 300000 Keime, nach 3 Stunden 30 Keime. Lebt.

Injiziert man aber zuerst die Keime in subletaler Dosis und nach einer gewissen Zeit den Extrakt, so zeigt sich keine aggressive Wirkung mehr, weil die Keime in nicht tödlicher Dosis entweder bereits verschwunden oder derart abgeschwächt sind, daß eine Vermehrung derselben nicht mehr erfolgen kann.

M_8, 220 g, erhält $^1/_{50}$ Agarkultur von Dysenteriebacillen i. p.; 2 Stunden darauf $^1/_8$ Extrakt einer Kultur. Das Tier stirbt, ohne daß die Zahl der eingeführten Keime zugenommen hätte.

Vergleichende Versuche mit 10 Minuten bezw. 2 Stunden lang gekochten Extrakten, mit durch Hitze abgetöteten und vom Extrakt durch Ausscheidung getrennten Keimen, mit Extrakt + abgetöteten Keimen ergaben, daß der bei einer Temperatur von 100° behandelte Extrakt einen großen Teil seines aggressiven Vermögens einbüßt, daß ferner die abgetöteten Keime an und für sich ohne Extrakt keine Wirkung äußern, die ganze Kultur dagegen (durch Hitze abgetötete Keime mit dem Extrakt zusammen oder durch Chloroform abgetötete Kultur) starke Wirkung entfaltet.

M_9, 230 g, erhält den 2 Stunden lang gekochten Extrakt einer Kultur + $^1/_{1000}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen i. p. Die Peritonealflüssigkeit enthält nach 30 Minuten 3000 Keime in einer Normalöse; nach 6 Stunden 180000 Keime; nach 9 Stunden 150000 Keime. Das Tier stirbt 14 Stunden nach der Injektion. Netz 1 Million Keime im ganzen; 1 ccm Blut enthält 800 Keime. Also starke aggressive Wirkung.

M_{10}, 300 g, erhält $^1/_8$ Extrakt von einer 2 Stunden lang gekochten Kultur + $^1/_{1000}$ lebender Kultur i. p. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 4500 Keime; nach 3 Stunden 22500 Keime; nach 24 Stunden 70 Keime. Das Tier stirbt nach 4 Tagen. Netz 300000 Keime; auf demselben viele Anhäufungen von fast sämtlich zerstörten Leukocyten. Wenig Keime und keine Phagocytose wahrnehmbar. Vorübergehende aggressive Wirkung.

M_{11}, 300 g, erhält die bei 60° 2 Stunden lang ausgezogenen Leiber von $^1/_8$ Kultur + $^1/_{100}$ lebender Kultur i. p. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 30 Minuten 3000 Keime; nach 3 Stunden 300 Keime; nach 16 Stunden 2000 Keime. Nach 16 Stunden tritt erhebliche Phagocytose hervor; das Tier stirbt nach 4 Tagen. Keine aggressive Wirkung.

M_{12}, 300 g, erhält die bei 60° ausgezogenen Leiber von $^1/_8$ Kultur + $^1/_{100}$ lebender Keime. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 30 Minuten 22000 Keime; nach 3 Stunden 2500 Keime; nach 5 Stunden 5 Keime. Das Tier stirbt nach 10 Stunden. Netz wie gewöhnlich verarbeitet $1^1/_2$ Millionen Keime. Keine aggressive Wirkung.

M_{13}, 280 g, erhält $^1/_6$ einer durch Chloroform abgetöteten Kultur + $^1/_{100}$ lebender Kultur. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 30 Minuten 60000 Keime; nach 5 Stunden 375000 Keime; nach 7 Stunden 775000 Keime; nach 10 Stunden 925000 Keime. Das Tier stirbt nach 10 Stunden; die Peritonealflüssigkeit enthält im ganzen 3 Milliarden Keime, das Netz 50 Millionen Keime; 1 ccm Blut 2000 Keime. Starke Aggressinwirkung.

Es erübrigte noch zu untersuchen, ob denn unsere Extrakte eine nur lokale oder durch Herabsetzung der allgemeinen Widerstandskraft nur eine Fernwirkung ausüben würden. Zu diesem Zwecke injizierten wir Extrakt subkutan und lebende Keime in die Bauchhöhle. Da keine Vermehrung der Keime eintrat, so kamen wir zu dem Schlusse, daß die Wirkung des Extraktes nur eine lokale ist.

M_{14}, 240 g, erhält den Extrakt einer Kultur s. c. und $^1/_{1000}$ lebender Kultur i. p. Das Tier stirbt nach 4 Tagen mit keimfreier Bauchhöhle.

M_{15}, 260 g, erhält den Extrakt einer Kultur s. c. und $^1/_{100}$ lebender Kultur i. p. Das Tier stirbt 10 Stunden nach der Einspritzung mit Verminderung der Zahl der eingeführten Keime.

Wenn man dagegen Extrakt und lebende Bacillen auf einmal subkutan einspritzt, so tritt auch in diesem Falle eine deutliche Aggressinwirkung ein.

M_{16}, 270 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^1/_{100}$ lebender Kultur s. c. Die subkutane Flüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 4500 Keime; nach 4 Stunden 15000 Keime; nach 6 Stunden 320000 Keime; Leukocyten nicht zu sehen. Das Tier stirbt nach 6 Stunden mit sterilem Blute.

Im allgemeinen gehen mit einer viel größeren Menge Bacillen subkutan behandelte Meerschweinchen viel später zu Grunde und weisen hierbei nur wenige Bacillen an der Injektionsstelle auf, während andererseits der subkutan eingeführte Extrakt einer Kultur von Ruhrbacillen das Meerschweinchen in der Regel einige Tage darauf und nur der Extrakt von 2 Kulturen, in 1 ccm K.S.W. aufgeschwemmt, ein 250 g schweres Meerschweinchen zu töten vermag.

In Anbetracht dieser überaus starken Wirkung des Extraktes von Ruhrbacillen stellten wir Versuche an, um festzustellen, ob die Aggressinwirkung selbst in dem Falle erhalten bliebe, wenn man dieselben Extrakte mit anderen Bakterien, zunächst Pseudodysenteriebacillen, zusammen injiziert. Letztere sind nach Prof. Kruse Erreger ruhrähnlicher Erkrankungen und den Dysenteriebacillen nahe verwandt. Gegenstand unserer Untersuchung sind auch noch die Paradysenteriebacillen[1]) gewesen und andere Mikroorganismen wie der Typhus- und Cholerabacillus sowie der Staphylo- und Streptococcus etc.

M_{17}, 270 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^1/_{1000}$ lebender Kultur von „Breidenbach" (Pseudodys. A) i. p. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 30 Minuten 7500 Keime; nach 3 Stunden 60000 Keime; nach 16 Stunden 450000 Keime; nach 24 Stunden 750000 Keime. Das Tier stirbt nach 24 Stunden. Die Peritonealflüssigkeit ($2^1/_2$ ccm) enthält nach dem Tode 3 Milliarden Keime; das Netz 18 Millionen; 1 ccm Blut 180000 Keime. Starke Aggressinwirkung.

M_{18}, 230 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^1/_{10000}$ lebender Kultur von Breidenbach i. p. Eine Normalöse der Peritonealflüssigkeit enthält nach 1 Stunde 1000 Keime; nach 3 Stunden 10000 Keime; nach 8 Stunden 30000 Keime; nach 13 Stunden 500 Keime; nach 48 Stunden 0 Keime. Das Tier stirbt nach 48 Stunden. Vorübergehende Aggressinwirkung.

M_{19}, 270 g, erhält den Extrakt einer 10 Minuten bei 100° gekochten Kultur von Dysenteriebacillen + $^1/_{1000}$ lebender Kultur von Breidenbach i. p. Das Tier stirbt nach 10 Stunden unter Vermehrung der i. p. eingeführten Keime. In der Peritonealflüssigkeit sind Leukocyten nicht vorhanden. Vor dem Tode zeigt das Tier Darmprolaps. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 45 Minuten 4500 Keime; nach 3 Stunden 90000 Keime; nach 6 Stunden 210000 Keime; nach 10 Stunden 22000 Keime. Nach dem Tode werden im ganzen $3^1/_2$ ccm Peritonealflüssigkeit gesammelt mit 110 Millionen Keimen. 1 ccm Blut enthält 600 Keime. Starke Aggressinwirkung.

M_{20}, 290 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^1/_{1000}$ lebender Kultur von Flexner (Pseudodysenterie B) i. p. Das Tier stirbt nach 6 Stunden ohne Vermehrung der Keime. Keine Wirkung.

1) Nach Kruses Bezeichnung (a. a. O.) unbewegliche Bacillen, die Traubenzucker unter Gasbildung vergären, aber Milch nicht koagulieren (Deyckes Dysenteriekultur).

M_{21}, 300 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von Elise (Pseudodys. E). Keine Vermehrung der Keime. Das Tier stirbt nach 6 Stunden. Wirkung 0.

M_{22}, 300 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von Bessler (Paradysenterie) i. p. Das Tier stirbt nach 6 Stunden unter Vermehrung der Keime. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 9000 Keime; nach 3 Stunden 180 000 Keime; nach 6 Stunden 750 000 Keime. Nach dem Tode enthält das Netz 56 Millionen Keime; 1 ccm Blut 500 Keime. Starke Wirkung.

M_{23}, 270 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von T. D. (Paradysenterie) i. p. Das Tier stirbt nach 6 Stunden unter Vermehrung der eingeführten Bacillen. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 1000 Keime; nach 3 Stunden 9000 Keime; nach 6 Stunden 33 000 Keime. Nach dem Tode enthält das Netz 2 240 000 Keime; 1 ccm Blut 600 Keime. Starke Wirkung.

M_{24}, 290 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von Typhusbacillen i. p. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 30 Minuten 1500 Keime; nach 3 Stunden 15 000 Keime; nach 10 Stunden 37 000 Keime; nach 2 Tagen 0 Keime. Das Tier überlebt. Vorübergehende Aggressinwirkung.

M_{24}a, 270 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^{1}/_{100}$ lebender Kultur von Typhusbacillen i. p. Stirbt nach 10 Stunden unter Vermehrung der injizierten Keime. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 45 Minuten 45 000 Keime; nach 3 Stunden 90 000 Keime; nach 6 Stunden 330 000 Keime; nach 10 Stunden 520 000 Keime. Im Netze werden 63 Millionen Keime gezählt. Starke Wirkung.

M_{24}b, 250 g, erhält nur $^{1}/_{10}$ lebender Kultur von Typhusbacillen i. p., stirbt nach 10 Stunden mit zahlreichen Bacillen. Kontrolltier.

M_{24}c, 250 g, erhält $^{1}/_{50}$ lebender Kultur von Typhusbacillen i. p., überlebt. Kontrolltier.

M_{25}, 250 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von Cholerabacillen i. p. Stirbt nach 12 Stunden unter Vermehrung der Keime. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 30 Minuten 2500 Keime; nach 3 Stunden 75 000 Keime; nach 12 Stunden 22 000 Keime. Nach dem Tode werden 4 ccm Peritonealflüssigkeit mit 88 Millionen Keimen gesammelt. Vorübergehende Aggressinwirkung.

M_{26}, 250 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^{1}/_{100}$ lebender Staphylococcus-Kultur i. p. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 2 Stunden 3000 Keime; nach 8 Stunden 18 000 Keime. Nach dem Tode werden 5 ccm Peritonealflüssigkeit gesammelt mit 100 Millionen Keimen; aus 1 ccm Blut wachsen 40 Kolonieen. Aggressinwirkung.

M_{27}, 270 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Dysenteriebacillen + $^{1}/_{10}$ lebender Streptococcus-Kultur, nach 2 Stunden verschwinden die eingespritzten Keime, das Tier überlebt. Wirkung 0.

Aus diesen Versuchen folgt, daß der Dysenterieextrakt auch auf manche andere Keime einen aggressiven Einfluß ausübt, und zwar einen recht starken auf gewisse Pseudo- und Paradysenteriebacillen, einen weit schwächeren auf andere Pseudobacillen sowie Typhus-, Cholerabacillen und Staphylokokken[1]), anscheinend gar keinen auf Streptokokken. Eine gewisse Spezifizität der Wirkung ist unverkennbar, der stärkste Erfolg wird gegenüber den Bakterien beobachtet, die das Aggressin produzieren. Man wird sich bei aller Anerkennung der Spezifizität darüber durchaus nicht zu wundern haben, daß auch fremde Bakterien in mehr oder weniger starkem Grade beeinflußt werden, auch bei der Dysenterie des Menschen spielt ja die Mischinfektion eine große Rolle, wohl ein Beweis, daß auch hier fremde Bakterien durch die Produkte des Dysenteriebacillus begünstigt werden.

1) Die tödliche Gabe der Pseudo- und Paradysenterie- sowie der Typhusbacillen allein betrug $^{1}/_{10}$—$^{2}/_{10}$ Kultur, die der Cholerabacillen $^{1}/_{100}$ Kultur, die der Staphylokokken $^{3}/_{10}$ Kultur. Die Streptokokken waren sehr wenig virulent.

Die folgenden Versuche, die mit Aggressinen anderer Bakterien gemacht wurden, bestätigen ebenfalls die Spezifizität derselben. Die Extrakte wurden in genau der gleichen Weise hergestellt.

Zunächst folgen einige Versuche mit dem Aggressin eines Pseudodysenteriestammes (A, Breidenbach), der allein für sich in der Gabe von $^{2}/_{10}$ einer Agarkultur tödlich war.

M_{28}, 250 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Breidenbach in 1 ccm i. p. Stirbt nach 8 Stunden. In der Peritonealflüssigkeit sind Leukocyten nicht vorhanden. Kontrolltier.

M_{28a}, 250 g, erhält den Extrakt von 2 Kulturen von Breidenbach in 2 ccm. Das Tier stirbt nach 8 Stunden. Auch in diesem Falle sind Leukocyten in der Peritonealflüssigkeit nicht wahrnehmbar. Kontrolltier.

M_{29}, 250 g, erhält den Extrakt einer Kultur + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von Breidenbach-Bacillen; stirbt nach 24 Stunden. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 2200 Keime; nach 4 Stunden 120 000 Keime; nach 16 Stunden 52 000 Keime; nach 24 Stunden 500 Keime. Im Netze werden mittels Platten 120 000 Keime gezählt. Im Blute zeigen sich keine Keime. Vorübergehende Aggressinwirkung.

M_{30}, 250 g, erhält die ausgezogenen Leiber von einer Kultur + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von Breidenbach. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 1500 Keime; nach 4 Stunden 50 Keime; nach 16 Stunden 5 Keime. Das Tier überlebt. Keine Wirkung.

Aus den Versuchen ist zu ersehen, daß der Extrakt einer Kultur von Breidenbach (Pseudodysenterie A) mit $^{1}/_{1000}$ einer gleichnamigen lebenden Kultur i. p. injiziert, eine starke Aggressivität entfaltet, nur schreitet die Vermehrung der Keime nicht bis zum Tode fort. Bacillenleiber erschienen in der gleichen Gabe nicht aggressiv. Der nämliche Extrakt vermochte hingegen keine aggressive Wirkung auszuüben, wenn er gleichzeitig mit der gleichen Dosis Dysenteriebacillen eingeführt wurde.

M_{31}, 250 g, erhält den Extrakt $^{1}/_{3}$ Kultur von Breidenbach + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen i. p. Die Keime verschwinden schnell und tritt schon nach 5 Stunden reichliche Leukocytose hervor.

M_{32}, 250 g, erhält den Extrakt einer Breidenbach-Kultur + $^{1}/_{1000}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen; erhebliche Leukocytose nach 10 Stunden; das Tier stirbt nach 3 Tagen. Keine Vermehrung der Bacillen.

Wird aber die Extraktdosis erhöht und eine größere Gabe von Keimen eingeführt, so tritt die aggressive Wirkung deutlich hervor.

M_{33}, 270 g, erhält den Extrakt von 2 Breidenbach-Kulturen + $^{1}/_{100}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen; stirbt nach 12—14 Stunden unter bedeutender Vermehrung von Keimen. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 20 Minuten 15 000 Keime; nach 2 Stunden 130 000 Keime; nach 5 Stunden 200 000 Keime. Agressinwirkung.

Ebenso wurden Versuche mit Extrakten von Typhusbacillen angestellt.

M_{34}, 250 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Typhusbacillen i. p.; lebt.

M_{34a}, 250 g, erhält den Extrakt von 2 Kulturen von Typhusbacillen in 1 ccm; stirbt nach 12 Stunden.

M_{35}, 260 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Typhusbacillen + $^{1}/_{100}$ lebender Kultur Typhusbacillen. Stirbt nach 8 Stunden. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 18 000 Keime; nach 4 Stunden 37 000 Keime; nach 8 Stunden 45 000 Keime. Nach dem Tode werden 5 ccm Peritonealflüssigkeit mit 300 Millionen Keimen entnommen, aus 1 ccm Blut wachsen nur 70 Kolonieen. Aggressinwirkung.

M_{36}, 250 g, erhält die ausgezogenen Leiber einer Kultur von Typhusbacillen + $^{1}/_{100}$ lebender Typhuskultur. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 1 Stunde 12 000 Keime; nach 4 Stunden 3000 Keime; nach 8 Stunden 2200 Keime. Das Tier stirbt nach 8 Stunden. Im Netze werden 360 000 Keime gezählt; aus 1 ccm Blut wächst keine Kolonie. Keine Aggressinwirkung.

M_{37}, 230 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Typhusbacillen + $^{1}/_{100}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse

nach 1 Stunde 50 Keime; nach 5 Stunden 0 Keime; nach 10 Stunden tritt starke Leukocytose ein. Keine Wirkung.

M_{37a}, 280 g, erhält den Extrakt einer Kultur von Typhusbacillen + $^1/_{100}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen. Das Tier stirbt nach 7 Stunden. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 3 Stunden 500 Keime; nach 6 Stunden 0 Keime. Nach dem Tode werden im Netze 540000 Keime gezählt; aus 1 ccm Blut wächst keine Kolonie. Keine Wirkung.

Die Versuche zeigen, daß der mit $^1/_{100}$ (der 10. Teil der tödlichen Dosis) lebenden gleichnamigen Bacillen i. p. eingespritzte Typhusextrakt aggressiv wirkt, ferner, daß die ausgezogenen Leiber der Bacillen diese Wirkung nicht ausüben. Wird dagegen der Typhusextrakt mit Dysenteriebacillen zusammen injiziert, so bleibt die Aggressinwirkung aus.

Wenn diese Versuche für die Spezifizität der Aggressinwirkung sprechen, so beweisen sie sicherlich auch zu gleicher Zeit, daß nicht die Giftigkeit der Extrakte, wie es von manchen Seiten (Dörr) geschieht, für die Agressivität verantwortlich gemacht werden darf. Denn giftig sind sie alle ziemlich in der gleichen Weise für die hier gewählten Versuchstiere.

Zur Ergänzung unserer Versuche schien es uns angebracht, den Einfluß eines sogenannten echten Toxins bei gleichzeitiger Einspritzung von Ruhrbacillen zu ermitteln, um zu sehen, ob auch dieses aggressiv wirkt.

M_{38}, 250 g, erhält 1 ccm Diphtherietoxin (von 8 Tage lang im Brutschranke gelassenen und dann abzentrifugierten Bouillonkulturen gewonnen) + $^1/_{100}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen i. p. Stirbt nach 24 Stunden mit keimfreier Bauchhöhle.

M_{39}, 320 g, erhält 5 mg Diphtherietoxin (das wir der Liebenswürdigkeit Herrn Prof. Morgenroths verdanken). Nach 20 Stunden sind sehr viele Leukocyten in der Bauchhöhle, alsdann wird $^1/_{50}$ Kultur von Dysenteriebacillen eingespritzt. Die Bacillen verschwinden sehr schnell aus der Peritonealflüssigkeit. 8 Stunden später tritt der Tod ein.

Aus den Versuchen geht hervor, daß reichlich tödliche Gaben Diphtherietoxin mit einer untertödlichen Dosis lebender Dysenteriebacillen i. p. eingespritzt, durchaus keine Aggressivität äußern. Die Herabsetzung der Körperkräfte ist also der Aggressinwirkung nicht gleich.

Einige an Kaninchen angestellte ähnliche Versuche ergaben, daß unsere Extrakte auch für diese Tiere bis zu einem gewissen Grade sich als aggressiv erweisen. Die Kaninchen waren sämtlich 1700—2000 g schwer. Bei den intraperitonealen Einspritzungen zeigte es sich, daß die Dysenteriebacillen, in der Gabe von $^1/_{100}$ Agarkultur i. p. eingeführt, in der freien Peritonealflüssigkeit bald verschwinden, während sie bei Anwendung des Extraktes von 2 Kulturen längere Zeit erhalten bleiben, wobei in den ersten Stunden eine fortschreitende Vermehrung derselben erfolgt.

Was die Aggressinwirkung im Blute anbetrifft, so haben wir folgendes gesehen. Wird den Kaninchen eine ganze Kultur von Dysenteriebacillen oder Teile davon intravenös (i. v.) eingespritzt, so gehen die Keime im Blute wie in den Organen zu Grunde. Nach 2 Stunden beobachtet man schon eine starke Abnahme. Werden aber Tiere mit dem Extrakt + lebenden Bacillen in die Ohrvene injiziert und nacheinander nach verschiedener Zeit abgetötet und deren Organe im Mörser verrieben und zu Zählplatten verarbeitet, so erhält man wenigstens gelegentlich selbst bei kleinen Gaben lebender Bacillen in den Organen und dem Blut eine ausgesprochene Vermehrung der Keime.

K_1 erhält $^1/_{100}$ Agarkultur von Dysenteriebacillen i. p. Die Bacillen verschwinden sehr schnell.

K_2 erhält den Extrakt von 4 Kulturen Dysenteriebacillen + $^1/_{100}$ lebender Kultur i. p. Nach 4 Stunden hat eine Vermehrung der Bacillen stattgefunden, die nach 11 Stunden ihren Höhepunkt erreicht.

K_3 erhält $^1/_{10}$ Agarkultur von Dysenteriebacillen i. v. Das Tier wird 9 Stunden darauf getötet. Nur wenige Keime im Blute und in den Organen.

K_4 erhält 1 Agarkultur von Dysenteriebacillen i. v. und wird nach 2 Stunden getötet. Wenige Bacillen in den Organen und im Blute.

K_5 erhält den Extrakt von 2 Agarkulturen von Dysenteriebacillen + 1 lebende Kultur i. v. Das Tier wird nach 2 Stunden getötet und zeigt wenige Bacillen in den Organen und im Blute.

K_6 erhält den Extrakt von 2 Agarkulturen von Dysenteriebacillen + 1 lebende Kultur. Wird nach 2 Stunden getötet. Nur wenige Keime in den verschiedenen Organen vorhanden.

K_7 erhält den Extrakt von 3 Agarkulturen + $^1/_{10}$ lebender Kultur i. v. Stirbt nach 9 Stunden mit sehr vielen Bacillen in den Organen (Leber, Milz, Lunge, Knochenmark und im Blut).

Die aggressive Wirkung bei der intravenösen Infektion des Kaninchens ist also unbeständig und vergleichsweise gering, wahrscheinlich wegen des außerordentlichen Widerstandes, den das Kaninchen im Blute dem Wachstum der Dysenteriebacillen entgegensetzt. Gerade beim Kaninchen zeigt sich übrigens, daß die „Giftigkeit" nichts mit der Aggressinwirkung zu tun hat, denn selbst die kleinsten Gaben unseres Extraktes töten die Kaninchen, ohne doch die Bacillen zum Wachstum zu bringen.

Wilde hatte schon gezeigt, daß gleichzeitig mit lebenden Bacillen i. p. eingeführte Aufschwemmungen von verschiedenen Organen (Leber, Milz etc.) sowie von Aleuronat im stande sind, die sonst untertödliche Gabe von Bacillen zum Wachstum zu bringen. Es war infolgedessen für uns wünschenswert, die Wirkung unserer Extrakte damit zu vergleichen. Wir benutzten eine selbstverständlich gut sterilisierte 20-proz. Aleuronataufschwemmung. Im Anschluß an die aggressive Wirkung studierten wir auch die bekannten defensiven des Aleuronats und versuchten sie mit Hilfe der Dysenterieaggressine aufzuheben.

M_{40}, 220 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat + $^1/_{1000}$ Kultur von Dysenteriebacillen i. p. Die eingespritzten Bacillen verschwinden sehr schnell, das Tier stirbt nach 6 Tagen. Keine Wirkung.

M_{41}, 220 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat + $^1/_{100}$ Kultur von Dysenteriebacillen i. p. Nach 5 Stunden keine Keime. Das Tier lebt. Keine Wirkung.

M_{42}, 220 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat + $^1/_{80}$ Kultur von Dysenteriebacillen. Das Tier stirbt nach 12 Stunden. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 30 Minuten 100 000 Keime; nach 3 Stunden 375 000 Keime; nach 5 Stunden 900 000 Keime; nach 8 Stunden ∞. In der nach dem Tode entnommenen Peritonealflüssigkeit werden 22 Milliarden Keime gezählt. Deutliche Aggressinwirkung.

M_{43}, 210 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronatbrei i. p. Nach 24 Stunden $^1/_{10}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen. Die Keime verschwinden sehr bald in der freien Peritonealflüssigkeit. Das Tier wird 6 Stunden nach der Injektion getötet. Im Netze 90 000, in einer Normalöse der Peritonealflüssigkeit 50 Keime. Schutzwirkung.

M_{44}, 240 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat i. p. 24 Stunden darauf $^1/_{10}$ Kultur von lebenden Dysenteriebacillen. Das Tier wird 45 Minuten nach der Einspritzung getötet. 1 Normalöse der Peritonealflüssigkeit enthält 2700 Keime, das Netz 360 000 Keime im ganzen. Schutzwirkung.

M_{45}, 280 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat i. p. Nach 8 Stunden $^1/_{10}$ Kultur lebender Dysenteriebacillen. Das Tier wird nach 45 Minuten getötet. 1 Normalöse der Peritonealflüssigkeit enthält 100 Keime. Schutzwirkung.

M_{46}, 300 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat i. p. 8 Stunden darauf $^1/_{10}$ Kultur von Dysenteriebacillen; wird nach 45 Minuten getötet. 1 Oese Peritonealflüssigkeit enthält 400 Keime. Das Netz $1^1/_2$ Million. Schutzwirkung.

M_{47}, 270 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat, nach 3 Stunden $^1/_{10}$ Kultur von Dysenteriebacillen. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 45 Minuten 300 Keime; nach 2 Stunden 0 Keime. Schutzwirkung.

M_{48}, 250 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat. 3 Stunden darauf $^1/_{10}$ Kultur von Dysenteriebacillen. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 45 Minuten

37000 Keime; nach 3 Stunden 100 Keime. Das Tier stirbt nach 10 Stunden. Schutzwirkung.

M_{49}, 250 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat i. p. 13 Stunden darauf den Extrakt $^1/_8$ Kultur + $^1/_{10}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen. Das Tier stirbt nach 9 Stunden unter Vermehrung der Keime. 1 Normalöse der Peritonealflüssigkeit enthält nach 20 Minuten 225000 Keime; nach 2 Stunden 60000 Keime; nach 6 Stunden 150000 Keime; nach 9 Stunden 500000 Keime. Aufhebung der Schutzwirkung durch Aggressine.

M_{50}, 280 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat + $^1/_{10}$ Kultur von Typhusbacillen. Stirbt nach 12 Stunden unter Vermehrung der Keime. Aggressinwirkung.

M_{51}, 270 g, erhält 2 ccm 20-proz. Aleuronat; 24 Stunden darauf $^1/_{10}$ Kultur von Typhusbacillen. Die Peritonealflüssigkeit enthält in einer Normalöse nach 45 Minuten 45000 Keime; nach 3 Stunden 9000 Keime; nach 5 Stunden 2200 Keime. Schutzwirkung.

Aus den Versuchen ist zu ersehen, daß auch das Aleuronat, wenn auch viel weniger als unsere Dysenteriebacillenextrakte, aggressiv wirkt. Die tödliche Gabe wird etwa auf den 3. Teil der gewöhnlichen herabgesetzt. Die Versuche belehren uns aber ferner, daß dies nur bei der gleichzeitigen Einspritzung von Aleuronat und Kultur geschieht, während das Bild ein ganz entgegengesetztes ist, wenn zwischen der Aleuronat- und Bacilleneinspritzung ein genügender Zeitraum liegt. Auch hier ist also wie bei den Bakterienextrakten die aggressive Wirkung flüchtig und wird von einer defensiven abgelöst.

Da diese Schutzwirkung in den beiden Fällen mit der außerordentlichen, durch das Aleuronat bezw. Bacillenextrakt bedingten Zuwanderung von Leukocyten zusammenfällt, sind wir geneigt, sie den Leukocyten selbst zuzuschreiben. Daß den Leukocyten eine überaus wichtige Rolle beizumessen ist, wird durch andere Versuche bestätigt.

Diese Schutzwirkung kann mit Erfolg durch Verabreichung von Dysenterieaggressin bekämpft werden.

Obwohl das tatsächliche Material über die Aggressinwirkung der Bakterienextrakte noch sehr erheblich vermehrt werden muß, haben wir doch schon jetzt einige Versuche gemacht, sie zu erklären.

Zunächst haben wir Versuche in vitro angestellt, um die Einwirkung unserer Extrakte auf bakterizide, phagocytäre und agglutinierende tierische Flüssigkeiten kennen zu lernen. Da zu den Tierversuchen die Bauchhöhle des Meerschweinchens benutzt wurde, beschlossen wir, auch für die Versuche in vitro die Peritonealflüssigkeit des nämlichen Tieres zu verwerten.

Vorversuche, die wir uns anderwärts mitzuteilen vorbehalten, hatten bereits folgendes ergeben. Die durch Aleuronat gewonnene und sogleich nach der Entnahme von den Leukocyten befreite Peritonealflüssigkeit zeigte nur ein geringes bakterizides Vermögen den Dysenteriebacillen gegenüber, indem in den allermeisten Fällen nur eine in den ersten Stunden sich geltend machende Entwickelungshemmung der Keime wahrzunehmen ist. Verwendet man aber zu den Versuchen die leukocytenhaltige Peritonealflüssigkeit, so ist die bakterizide Wirkung eine sehr bedeutende, was sich zum Teil erklärt durch eine reichliche Phagocytose. Wird nun, sei es in dem ersten, sei es in dem zweiten Falle, d. i. sowohl beim Versuche mit Leukocyten als bei dem ohne dieselben, eine gegebene Dosis unseres Extraktes hinzugetan, so bleibt die bakterizide Wirkung vollständig aus [1]).

---

1) Die Versuche wurden im hängenden Tropfen angestellt, indem diese zu Platten verarbeitet wurden.

	Sofort nach der Einsaat	n. 1 Stde	n. 4 Std.	n. 8 Std.
1) Peritonealflüssigkeit mit Leukocyten		4 500	200	0
2) wie No. 1 + 1 mg Extrakt		25 000	sehr viele	∞
3) Peritonealflüssigkeit von den Leukocyten befreit	30 000	30 000	45 000	sehr viele
		—	sehr viele	∞
4) wie No. 3 + 1 mg Extrakt		—	sehr viele	sehr viele

Weitere zahlreiche Versuche haben uns obigen Befund bestätigt.

Das Blutserum des normalen Meerschweinchens wirkt bakterizid auf die Dysenteriebacillen ein, bei Zusatz des Extraktes nicht mehr:

	Sofort nach der Einsaat	n. 3 Std.	n. 7 Std.
1) Normales Blutserum (Meerschweinchen)		400	0
2) wie No. 1 + 1 mg Extrakt	40 000	sehr viele	∞
3) Kontrolle		sehr viele	∞

Nicht anders fielen die Resultate aus, wenn man den Extrakt mit agglutinierendem Serum versetzt. Zu diesem Versuche benutzten wir agglutinierendes Serum eines hochimmunisierten Esels von dem Titer 1 : 3000. Die Proben wurden mit gleicher Menge von verdünntem Serum, Extrakt und 20 Stunden alter Bouillonkultur beschickt, die Kontrolle durch Zusatz von Kochsalzlösung auf das gleiche Niveau gebracht[1]).

Immunserum + Kochsalzlösung.

	n. 1 Stunde	n. 3 Stunden	n. 6 Stunden
1) 1:300	+	+	+
2) 1:3000	—	+	+
3) Kontrolle	—	—	—

Immunserum + Extrakt von Dysenteriebacillen.

	n. 1 Stunde	n. 3 Stunden	n. 6 Stunden
1) 1:300	+	+	+
2) 1:3000	—	—	—

Das Resultat bleibt ähnlich, wenn man anstatt Immunserum Normalserum von Meerschweinchen oder Peritonealflüssigkeit eines mit Aleuronat vorbehandelten Normaltieres anwendet, mit dem einzigen Unterschiede, daß das Serum nicht verdünnt werden darf und, während die Kultur- und Extraktdosis die gleiche bleibt, jene des Normalserums bezw. Peritonealflüssigkeit eine 3mal größere ist.

	n. 1 Stunde	n. 4 Stunden
1) Peritonealflüssigkeit von Leukocyten befreit	+	+
2) wie No. 1 + Extrakt	—	—
3) Blutserum	+	+
4) Blutserum + Extrakt	—	—
5) Kontrolle	—	—

Wie bekannt, haben Volk und Eisenberg, Wassermann u. A. auf die Erscheinung aufmerksam gemacht, daß ein auf 75° 1 Stunde erhitztes spezifisches agglutinierendes Serum die nämlichen Bakterien nicht mehr zu agglutinieren vermag. Werden die Bakterien mit dem so behandelten Serum in Berührung gebracht, so erfolgt aber doch zwischen den beiden eine Verbindung, die nach dem weiteren Zusatz von frischem agglutinierenden Serum zu den zentrifugierten Bacillen die Agglutination von diesen unmöglich macht (Agglutinoidwirkung). Wir haben das Serum mit einer gewissen Dosis unseres Extraktes versetzt und das Gemisch 1 Stunde auf 75° erwärmt, wobei sich keine Präzipitation zeigte. Durch den Zusatz von Extrakt wird die Verbindung zwischen Agglutinoid und Bacillen behindert.

1) + bedeutet Agglutination, — Fehlen derselben.

1:10 bezw. 1:20 Verdünnung von einem agglutinierenden Serum (Eselserum), Titer 1:6000, wird 1 Stunde auf 75° erwärmt. 0,5 ccm der 1:10 Verdünnung werden mit 0,5 ccm Extrakt von Dysenteriebacillen versetzt; von der $^1/_{20}$-Verdünnung wird 1 ccm (ohne Extrakt) genommen. Die zwei Röhren bleiben 1 Stunde lang im Brutschrank, dann werden sie herausgenommen, wobei in denjenigen mit Extraktzusatz kein Präzipitat zu sehen ist. Alsdann wird jede Probe mit $^1/_2$ Agarkultur von Dysenteriebacillen unter Schütteln gut gemischt und wieder in den Brutschrank gebracht. Die Bacillen werden mit Filtrierpapier von der Flüssigkeit abgetrennt, mehrere Male gut gewaschen, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und auf ihre Agglutinabilität geprüft.

	Bakterien mit Serum + Extrakten behandelt		Bakterien mit Serum allein behandelt	
	n. 30 Minuten	n. 5 Stunden	n. 30 Minuten	n. 5 Stunden
1) $^1/_{500}$	+	+	—	—
2) $^1/_{1000}$	+	+	—	—
3) $^1/_{2000}$	—	+	—	—
4) $^1/_{5000}$	—	—	—	—
5) $^1/_{10000}$	—	—	—	—
6) Kontrolle	—	—	—	—

In Tierversuchen kann man eine Hemmungswirkung des Aggressins auf spezifisch bakterizides Serum beobachten.

Von zwei 300 g schweren Meerschweinchen erhält das eine

M_{52} 1 ccm $^1/_{20}$ Immunserum (Eselserum) + die letale Dosis von Dysenteriebacillen i. p.

Das andere

M_{53} 0,5 ccm $^1/_{10}$ Immunserum (Eselserum) + 0,5 ccm Extrakt (vor $^1/_2$ Stunde gemischt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen) + die tödliche Dosis von Dysenteriebacillen i. p.

Nach 2 Stunden zeigt die Peritonealflüssigkeit des ersten Tieres zahlreiche angehäufte und zum Teil isolierte Leukocyten; in 1 ccm Peritonealflüssigkeit werden 4 Millionen Bacillen gezählt. Das Tier bleibt am Leben. Bei dem zweiten sind Leukocyten nicht zu sehen; in 1 ccm Peritonealflüssigkeit sind 30 Millionen Keime vorhanden. Das Tier stirbt nach 10 Stunden.

Von zwei 280 g schweren Meerschweinchen erhält das eine

M_{54} 1 ccm Blutserum eines immunisierten Meerschweinchens + $^1/_{10}$ Agarkultur von Dysenteriebacillen i. p.

Das andere

M_{55} erhält 1 ccm Serum + $^1/_3$ ccm Extrakt (vor 1 Stunde gemischt und in Zimmertemperatur gelassen) + $^1/_{10}$ Kultur von Dysenteriebacillen.

Die Peritonealflüssigkeit des ersten Tieres zeigt schon nach 2 Stunden ziemlich zahlreiche, nach 6 Stunden sehr viele Leukocyten. Beim zweiten Tiere sind weder nach 2 Stunden noch nach 6 Stunden Leukocyten zu sehen.

Keimzahl in 1 ccm Peritonealflüssigkeit.

	M_{54}	M_{55}
nach 30 Minuten	3 $^1/_2$ Millionen	50 Millionen
nach 2 Stunden	35 Mill.	75 Mill.
nach 6 Stunden	1 Mill.	∞
nach 16 Stunden	300 000	—
	Das Tier stirbt nach 5 Tagen	Das Tier stirbt nach 10 Stunden

Das Aggressin hemmt auch die Schutzwirkung der Leukocytose, die im Peritoneum durch Aleuronat hervorgerufen ist. Ein solcher Versuch wurde am Meerschweinchen 49 (s. o.) gemacht. Die Leukocyten verschwinden hier zuerst, später kommen sie ziemlich zahlreich wieder zurück. Im Netze und in der Peritonealflüssigkeit fehlt die Phagocytose nicht ganz, aber sie ist spärlich. Zahlreiche Keime in den Organen.

Aus dem Versuche ist zu ersehen, daß trotz Hemmung der den Leukocyten eigenen Schutzwirkung (die ohne Extrakt das Tier zweifellos gerettet hätte) auch in diesem Falle eine gewisse Phagocytose hervortritt. Bei anderen ähnlichen Versuchen kann die Phagocytose eine noch erheblichere sein.

• M_{87}, 280 g, wird mit Aleuronat i. p. eingespritzt; nach 10 Stunden erhält es $^1/_8$ Kulturextrakt, nach weiteren 20 Minuten $^1/_{10}$ lebender Kultur von Dysenteriebacillen. Das Tier wird nach 45 Minuten getötet; auf dem Netze Anhäufung von Leukocyten und Bacillen, hier und da ist die Phagocytose bedeutend.

Weitere Versuche, die diese und andere Fragen aufklären sollen, sind im Gange.

Was die Immunisierung der Meerschweinchen mittels Extrakten von Dysenteriebacillen anbelangt, so können wir darüber nicht viel sagen, da unsere Versuche nicht zahlreich genug gewesen sind. Wir glauben aber, daß solche Immunisierungen im allgemeinen nicht leicht gelingen werden, weil das Tier gegen die in den Extrakten vorhandenen Bakteriengifte auf die Dauer sehr empfindlich zu sein scheint.

Schlußfolgerungen.

1) Aus den Dysenteriebacillen kann durch Kochsalzlösung bei 60° ein Extrakt mit sehr erheblicher aggressiver Wirkung hergestellt werden. Er ist im stande, noch $^1/_{1000}$ der tödlichen Dosis von Dysenteriebacillen zum Wachstum zu bringen.

2) Die Aggressivität des Extraktes ist quantitativ bis zu einem gewissen Grade spezifisch, denn die stärkste Wirkung erfolgt bei der gleichzeitigen Injektion von Dysenteriebacillen.

3) Die aggressive Wirkung ist durch die Toxizität der Extrakte nicht zu erklären. •

4) Das Aggressin verhindert das Zuströmen und die Wirkung der Leukocyten und hebt auch die agglutinierenden und bakterientötenden Eigenschaften von spezifischen Seris auf.

5) Die Aggressinwirkung des Bakterienextraktes ist flüchtig, nach einigen Stunden geht sie in eine defensive Wirkung über.

6) Es gelingt auch aus anderen Bakterien durch die nämliche Behandlung aggressive Extrakte zu gewinnen. Deren Wirkung ist schwächer, aber anscheinend auch spezifisch.

On auxilytic[1]) and antilytic serum components[2]).

[From the Pathological Laboratory of the Indiana University.]

By **Wilfred H. Manwaring**, Sc. B., M. D.,
Associate Professor of Pathology, Indiana University.

With 8 diagrams.

In a previous paper[3]) it was pointed out that in order to understand the quantitative laws governing the action of hemolytic serum, it is necessary to take into account, not only the amboceptor and complement usually regarded as the only active components, but a third serum component as well. This third component is the substance present in normal serum, after the complement has been destroyed by heat.

1) *Αὔξειν*, to increase.

2) Presented before the Chicago Pathological Society, April 9, 1906, and before the American Association of Pathologists and Bacteriologists, at Baltimore. Md. May 18. 1906. Work aided by the Rockefeller Institute for Medical Research.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI. p. 455.

To this component the name "complementoid" is currently applied, under the assumption that it is a degeneration product of complement. The evidence, however, indicates that this component is not a single substance, but a mixture of a number of substances, no one of which has yet been shown to be derived from complement. The mixture will, therefore, be referred to simply as the third serum component.

The action of this component is very complex. If increasing amounts of it are added to a constant amount of hemolytic serum, there is obtained, in certain experiments, a more or less rapid increase in hemolytic power. Such an action is shown graphically in Curves A and D, Fig. 1. In other experiments, there is obtained an initial increase in

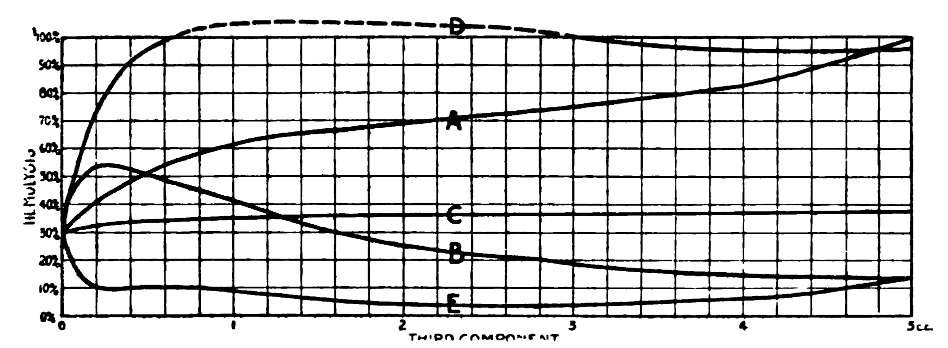


Fig. 1. Third component curves. These curves show the changes in hemolytic power due to the addition of increasing amounts of third component, to a constant amount of hemolytic serum. The curves were made with different sera, different corpuscles and on different days. They are given here simply to show the remarkable variability in the action of the third component.

hemolytic power, followed by a decrease (B). In others, a purely decreasing effect (E). While in rare cases the third component has practically no effect (C). Work was undertaken to determine the cause of this remarkable variability.

There are two conceivable causes for it. First, the sera of different animals may differ in this component. Second, differences may be produced by differences in experimental method. Both possibilities were tested.

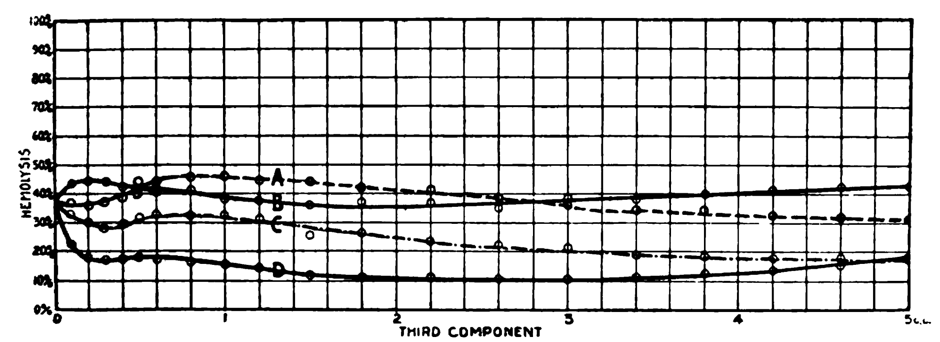


Fig. 2. Comparison of third components of different normal Sera. The curves show the effect on hemolytic power of adding increasing amounts of four different normal sera, heated to 56° C for 60 minutes, to a constant amount of hemolytic serum. Curves made with the same hemolytic serum, the same corpuscles, and on the same day.

In order to compare the third components of different sera, equal volumes of blood were drawn from a number of normal animals on the same afternoon and the sera allowed to separate in the same ice-chest over night. The next forenoon, 50 c. c. of each serum were measured out into flasks of the same size. These were then heated to 56° C, for 60 minutes, in the same thermostatic water-bath and under conditions that assured uniformity of heating. Third component curves were then plotted with the resulting sera.

Four curves so obtained are shown in Fig. 2. A second experiment, performed in the same way, but with sera heated to 59° C, gave

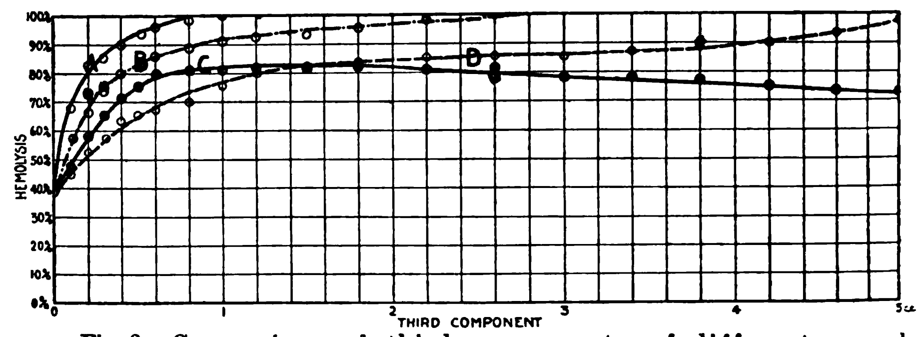


Fig. 3. Comparison of third components of different normal Sera. Curves, as in Fig. 2, showing effects on hemolytic power of adding increasing amounts of four different normal sera, heated to 59° C for 60 minutes, to a constant amount of hemolytic serum. Curves made with the same hemolytic serum, the same corpuscles and on the same day.

the curves of Fig. 3. The two sets of curves show that the sera of different normal animals, prepared under identical conditions, possess widely different third components.

To determine the effect of differences in mode of treatment on the third component, a large quantity of normal serum was drawn, and equal volumes of it heated in the same thermostatic water-bath, for different periods of time. Third component curves were then plotted.

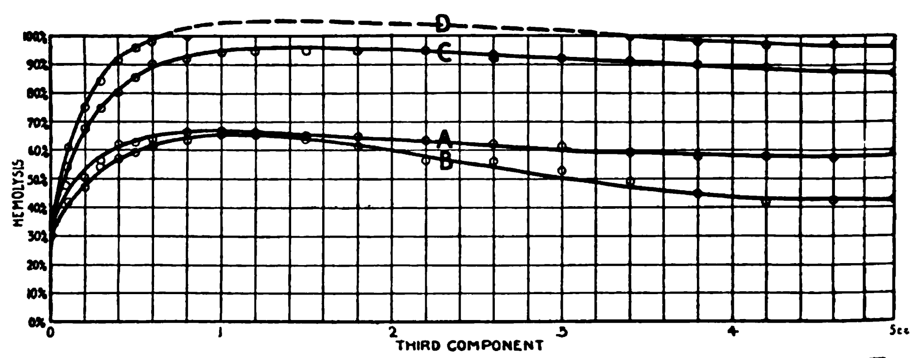


Fig. 4. Effect of time of heating on the third component. The curves show the changes in third component, as the serum is heated for different periods of time. A = curve with serum heated to 56° C for 30 minutes; B = curve with same serum heated to 56° C for 60 minutes; C = curve, heated 100 minutes; and D, 160 minutes. Curves made with same sera, same corpuscles, and on the same day.

Four curves, obtained in this way, are shown in Fig. 4, and five similar curves in Fig. 5. These curves show that differences in mode of treatment produce widely different third components.

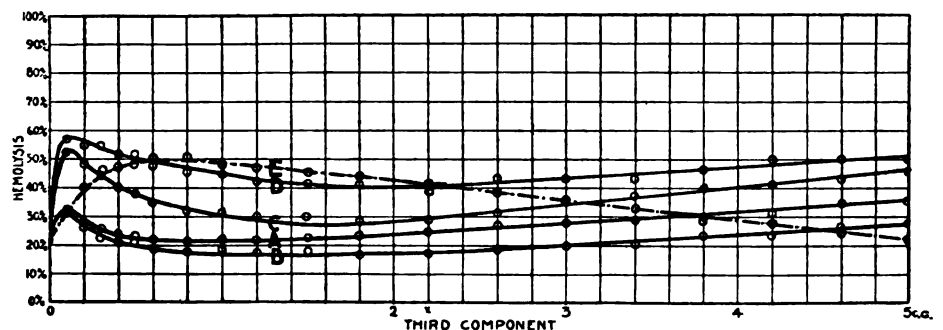


Fig. 5. Effect of time of heating on the third component. Curves, as in Fig. 4, showing changes in third component as the serum is heated for different periods of time. A = curve with serum heated to 56° C for 35 minutes; B = curve with same serum heated to 56° C for 65 minutes; C = curve, when heated 165 minutes; D, 240 minutes; and E 330 minutes. Curves made with the same sera, the same corpuscles and on the same day. The curves differ from those in Fig. 4, in that, in place of a constant amount of hemolytic serum, a constant amount of an artificial hemolytic amboceptor-complement mixture was used.

An examination of these curves shows that one of the effects of prolonged heating is the production of auxilytic substances (see Curve D, Fig. 4). There is also evidence of the production of antilytic substances (Curve B, Fig. 5), and of secondary changes in the nature of the auxilysin (Curve E, Fig. 5). Experiments were undertaken to follow these changes in detail as serum is heated for long periods of time.

To do this, a flask of normal serum was heated in a thermostatic water-bath and an accurately measured sample of the serum was removed at stated intervals and cooled in ice water. A constant amount of hemolytic serum was afterwards added to each sample, and the hemolytic power of the resulting mixtures determined.

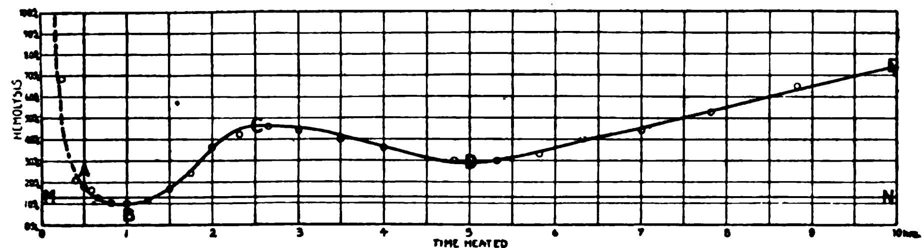


Fig. 6. Thermo-genesis of antilysin and auxilysins. Curve A—E shows the successive changes in auxilytic and antilytic power of the same amount of normal serum, when heated to 56° C for ten hours. The constant amount of hemolytic serum used in the experiment, was in itself capable of producing 14 per cent. hemolysis (M—N). Dotted portion of A—E shows curve before the complete destruction of complement. Curve A—E shows four phenomena: (i) the production of a small amount of antihemolysin, after the serum has been heated for 60 minutes; (ii) the comparatively rapid production of a primary auxihemolysin as the serum is heated beyond that period of time, the auxilysin reaching its maximum in about two-and-a-half hours; (iii) the partial destruction of the primary auxilysin as the serum is heated longer than two-and-a-half hours; and (iv) the production of a secondary auxihemolysin, the secondary auxilysin apparently not having reached its maximum at the end of ten hours.

A graphic representation of the result, obtained with serum heated to 56° C, is shown in Fig. 6. This shows that, following the complete destruction of complement (A), there is a gradual production of a weak antilytic substance. This reaches its maximum in about 60 minutes (B). Following this, there is a production of a comparatively strong auxilytic substance, which attains a maximum in about two and a half hours. This substance is apparently, in part at least, destroyed (D), after which there is a gradual production of a second auxilytic substance (E). This, apparently, has not reached its maximum at the end of ten hours' heating.

A similar curve, obtained by heating a second serum to 59° C, is shown in Fig. 7. This shows the same general phenomenon, except that here the events occur with greater rapidity.

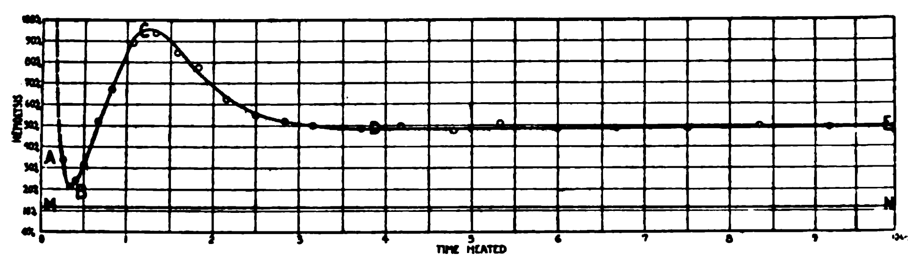


Fig. 7. Thermo-genesis of auxilysin. Curve, as in Fig. 6, showing the changes in the auxilytic power of the same serum when heated to 59° C, for ten hours. Curve shows the same general phenomenon as Fig. 6, except that the events occur with much greater rapidity. The production of the antilysin (B) is apparently masked by the earlier and more marked production of the primary auxilysin.

It was thought that this phenomenon might explain the differences observed between the third components of different normal sera, prepared under identical conditions. It is conceivable that the observed differences are due, either to differences in the amounts of the various auxilytic and antilytic substances formed during heating, or to differences in the times at which they appear or disappear during heating.

To test this conception, a number of sera were heated in the same thermostatic water-bath, and parallel curves plotted showing the changes in their auxilytic and antilytic properties. Three curves so obtained are shown in Fig. 8.

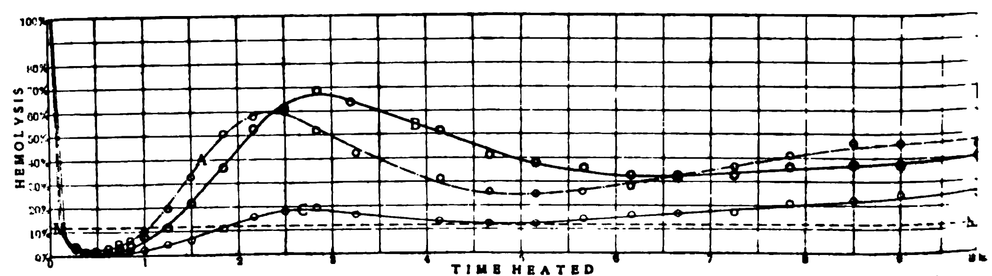


Fig. 8. Comparison of the thermo-genesis of auxilytic and antilytic substances in different sera. Curves, as in Fig. 6 and 7, showing the changes in the auxilytic and antilytic powers of equal volumes of three different normal sera, when heated to 56° C, for ten hours. Curves made with the same corpuscles, the same hemolytic serum, and on the same day.

From these it is evident that the differences observed between the third components of different normal sera, are due, not so much to differences in the times at which the various auxilytic and antilytic substances are produced or destroyed, as to differences in the amounts of the substances so produced.

No theory is as yet advanced as to the nature of the various substances herein reported, nor as to their bearing on fundamental concepts of serum pathology.

Summary.

1. After the destruction of complement by heat, there is left, in normal goat serum, a third component, which, in different experiments, shows auxilytic, antilytic or negative properties, when tested with goat serum immunized against sheep corpuscles.

2. The third components obtained under identical conditions, from different normal goats, differ widely in their effects on hemolytic action.

3. The third component of the same serum differs widely under different experimental conditions.

4. On heating normal goat serum to 56° C, there is produced at first a weak antilytic substance. This is succeeded by a comparatively strong primary auxilysin. The primary auxilysin is, in part at least, destroyed, and is succeeded by a secondary auxilysin. This apparently has not reached its maximum at the end of ten hours' heating.

5. Heating the serum to 59° C, produces approximately the same effects, except that the events succeed each other with greater rapidity.

6. The sera of different normal goats differ but slightly in the times at which the various auxilytic and antilytic substances appear and disappear during prolonged heating, but differ markedly in the amounts of the substances so appearing.

7. No theory is as yet advanced as to the nature of the various substances herein reported, nor as to their bearing on fundamental concepts of serum pathology.

Studien über Immunisierung gegen das Virus der Hühnerpest.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

I. Die aktive Immunisierung der Gans.

Von Prof. **R. Kraus** und Dr. **J. Schiffmann.**

Wenn wir die Literatur über die Immunisierung der Hühnerpest überblicken, so ergibt sich als ein fast übereinstimmendes Resultat aller Autoren, daß es keinem gelungen ist, in einwandfreier Weise, weder eine aktive Immunisierung bei empfänglichen Tieren zu erzielen, noch spezifisch Gegenkörper zu erweisen.

Maggiora und Valenti (1) berichten in einer kurzen Mitteilung über Versuche das Virus durch Wärme, Austrocknen und Licht abzuschwächen, ohne zu einem Resultate zu gelangen. Sie führen auch Ver-

suche über Immunisierung von Enten an, aus welchen aber keine Schlüsse zu ziehen sind, nachdem der subkutane Infektionsmodus mit virulentem Material bei Enten absolut unsicher ist. Auch mit dem Serum von Schafen und Eseln, die mit Virus intravenös behandelt worden waren, konnten sie sichere Schutzwirkung bei Hühnern gegen ein virulentes Virus nicht erzielen.

Eingehende Untersuchungen über aktive und passive Immunität hat Maue (2) angestellt. Er verwendete zu seinen Versuchen durch Trocknen abgeschwächtes und durch Wärme getötetes Virus (Organe) und behandelte damit Hühner, die aber gegen vollvirulentes Material nicht absolut geschützt werden konnten. Auch die Versuche mit Serum der mit Virus vorbehandelten Hammel, Ziegen, Esel, Enten, Gänse und Tauben haben bei Hühnern keine sicheren Resultate ergeben. Eine sichere Schutzwirkung des Serums ließ sich nicht erweisen. Russ (3) hat die gleichen Versuche wie Maue mit erwärmten Virus durchgeführt, indem er Hühner längere Zeit mit verschieden erwärmten Virus (Blut, Organe) ohne Erfolg zu immunisieren versuchte.

Wir sehen also, daß mit den üblichen Immunisierungsmethoden, wenn wir von der Bemerkung Maggioras und Valentis (4) abstrahieren, sie hätten durch Injektion mit Virus ein wirksames Gansserum hergestellt — keinem der Autoren ein Verfahren mit aktiver Immunisierung der Hühner gelungen ist und auch von keinem Antikörper gegen Hühnerpestvirus nachgewiesen worden sind.

I.

Unsere eigenen Versuche, die zum Teil bereits vor Jahren in der von den Autoren angeführten Richtung von Kraus und Lipschütz ohne Erfolg durchgeführt worden sind, wurden wieder aufgenommen und stützen sich hauptsächlich auf die von Kleine (5) erbrachten Befunde über eine Lokalisation des Hühnerpestvirus im Zentralnervensystem der intramuskulär infizierten Gans. Es lag der Gedanke nahe, analog der Abschwächung des Lyssavirus nach Pasteur durch Passage des Virus durch eine andere Tierart und Austrocknen dieses im Zentralnervensystem der Gans lokalisierte Virus zu diesen Versuchen zu benutzen. Die Versuche bezweckten zunächst vergleichsweise die Abschwächung des Virus im Rückenmark der Hühner und im Rückenmark der intramuskulär infizierten jungen Gänse zu studieren[1]), um den Einfluß der Tierart auf das Virus festzustellen (s. Tabelle I u. II).

Die Versuche mit über Kali causticum bei 22° getrocknetem Rückenmark von Hühnern, welches im frischen Zustand sowohl für Hühner als auch für Gänse als infektiös sich erweist, ergaben, daß weder 5 noch 8, 10, 15 oder 20 Tage lang (über Kali causticum bei 22°) getrocknetes Rückenmark in seiner Infektiosität für Hühner abgenommen hat. Es erwies sich ebenso infektiös wie frisches Mark, indem die Hühner im gleichen Zeitraum eingingen wie die mit frischem Marke geimpften. Es möge an dieser Stelle bemerkt werden, daß Maue selbst nach 233 Tage währendem Trocknen das Rückenmark virulent fand.

1) Diese Versuche ließen sich nur in der Periode durchführen, in der uns junge Gänse zur Verfügung standen, nachdem, wie bereits Kleine nachgewiesen hat und auch wir bestätigen konnten, ältere Gänse für intramuskuläre Infektion nicht empfänglich sind.

Tabelle I.
Virulenz des Rückenmarkes [1]) vom Huhn nach intramuskulärer Injektion mit Hühnervirus [2]).

Huhn No.	Zeit des Trocknens über Kali causticum bei 22°	Injektions-menge	Resultat
1	5 Tage	2 ccm	tot nach 4 Tagen
2	8 „	2 „	„ „ 3 „
3	10 „	2 „	„ „ 3 „
4	10 „	2 „	„ „ 3 „
5	10 „	2 „	„ „ 3 „
6	15 „	2 „	„ „ 4 „
7	20 „	2 „	„ „ 3 „
8	20 „	2 „	„ „ 4 „

Tabelle II.
Rückenmark von der jungen Gans, intramuskuläre Injektion mit Hühnervirus.

Huhn No.	Zeit des Trocknens über Kali causticum bei 22°	Injektions-menge	Resultat
1	frisch	2 ccm	tot nach 8 Tagen
2	4 Tage	2 „	bleibt am Leben
3	8 „	2 „	„ „ „
4	9 „	2 „	„ „ „

Huhn 2 und 3 wurden nach 2 Wochen mit frischem Mark reinfiziert und gingen dann nach 3 resp. 4 Tagen ein.

Bei Huhn 3 wurde auch in dünne Schnitte zerlegtes und getrocknetes Gehirn mitverwendet.

Dem gegenüber konnte konstatiert werden, daß Rückenmark von subkutan infizierten jungen Gänsen schon nach relativ kurzer Zeit über Kali causticum seine Virulenz sowohl für Hühner als für junge Gänse verloren hat. Wir haben uns zunächst von der Infektiosität des Rückenmarks junger, von der Subcutis aus infizierter Gänse überzeugt und konnten ebenso wie Kleine das Virus nach dem Tode nur im Zentralnervensystem, nicht im Blute der eingegangenen Tiere finden. Wir konnten jedoch mit 13, 9, 8 ja sogar 4 Tage lang (über Kali causticum bei 22°) getrocknetem Rückenmark Hühner nicht infizieren, die später mit virulentem Virus intramuskulär sich als infizierbar erwiesen.

Es war demnach eine neue Tatsache festgestellt, daß nämlich ein durch die Gans und zwar intramuskulär passiertes Hühnervirus gegenüber dem durch Hühner intramuskulär passierten Virus durch Austrocknen über Kali causticum sich in relativ kurzer Zeit abschwächen ließ.

Wovon dieses verschiedene Verhalten des Gansvirus und des Hühnervirus abhängig ist, darüber sollten weitere Studien Aufklärung bringen. Zunächst dachten wir daran, daß das Vorhandensein der von Kleine und Schiffmann (6) nachgewiesenen Körperchen im Zentralnervensystem der intramuskulär infizierten Gans in irgend einem Zusammen-

1) Das Rückenmark wird steril entnommen und in physiologischer Kochsalzlösung emulgiert.

2) Das Virus verdanken wir der Freundlichkeit des Herrn Prof. Lode in Innsbruck. Zu den Versuchen wurde stets dasselbe Virus benutzt.

hang zur Abschwächung stehen könnten, insofern als Schiffmann diese Körperchen im Zentralnervensystem der infizierten Hühner bisher nicht nachweisen konnte. Es wäre ja möglich, daß diese Körperchen ein Stadium der Entwickelung des Parasiten vorstellen, wenn man sie als Parasiten auffassen will, welches leichter zerstörbar ist als das der Hühner. Anläßlich der folgenden Experimente werden wir noch auf diese Frage zurückkommen.

II.

Kleine hat bereits festgestellt, daß ältere Gänse von der Subcutis oder intramuskulär sich mit Hühnervirus nicht infizieren lassen. Die Beobachtung Kleines konnten wir im Verlauf unserer Versuche ebenfalls bestätigen. Wir konnten aber außerdem erweisen, daß ältere Gänse, die von der Subcutis resp. intramuskulär nicht mehr infizierbar, also von der Subcutis aus resp. intramuskulär immun sind, noch empfänglich sich zeigen gegenüber einer subduralen Infektion.

In einer ganzen Reihe von Versuchen konnte diese Tatsache wiederholt beobachtet werden. Die von der Subcutis aus unempfindlichen älteren Gänse bleiben für die cerebrale Infektion empfänglich.

Tabelle III.
Subdurale Infektion mit Hühnervirus.

Gans No.	1	2	3	4	5	6	7
Resultat	nach $2^1/_2$ Tagen tot	nach 4 Tagen tot	nach 4 Tagen tot	bleibt am Leben	nach 3 Tagen tot	nach 4 Tagen tot	nach 4 Tagen tot

Gans 4 war vor der subduralen Infektion bereits 2mal ohne Erfolg intramuskulär mit virulentem Huhnvirus behandelt worden. Cfr. dazu die Immunisierungsversuche.

Gans 5 wurde mit virulentem Gänsevirus (Gehirn) geimpft, das durch subdurale Impfung mit Hühnervirus erhalten wurde.

Mit dem Gehirn von Gans 1, dem Rückenmark von Gans 1, 2 und 5, der Leber von Gans 1, 2 und 5 intramuskulär infizierte Hühner gingen nach 3 resp. 4 Tagen ein. Ein von der Milz Gans 5 geimpftes Huhn blieb am Leben.

Zunächst bringt diese festgestellte Tatsache einen weiteren Beweis für die lokale Immunität und lokale Schutzvorrichtungen des Organismus, sie bietet eine Analogie zu den Versuchen mit Tetanustoxin bei Hühnern und zu den bekannten Versuchen von Roux und Borrel über cerebralen Tetanus.

Die Eigenschaften des Virus bei dieser Art der Infektion stimmen jedoch nicht mit denen bei intramuskulär infizierten jungen Gänsen überein.

Zunächst was die Krankheitsdauer betrifft, so gehen die subdural infizierten Gänse in der Regel in 3—4 Tagen zu Grunde, indem sie häufig bereits am 2. Tage nach der Infektion schwere Krankheitserscheinungen, Paralysen zeigen. Die mit dem gleichen Virus subkutan resp. intramuskulär geimpften jungen Gänse in den früheren Versuchen sind erst 7 resp. 8—10 Tage nach der Infektion zu Grunde gegangen.

Ein weiterer Unterschied gegenüber der intramuskulär infizierten jungen Gans betrifft die Lokalisation des Virus. Kleine hat, wie bereits erwähnt, festgestellt, daß bei jungen intramuskulär infizierten Gänsen das Virus nach dem Tode bloß im Zentralnervensystem lokalisiert sei; die anderen Organe und

auch das Blut erwiesen sich als nicht infektiös. Demgegenüber konnten wir bei den subdural infizierten Gänsen in einigen Versuchen stets auch die Leber infektiös finden.

Die Lokalisation des Virus also bei diesen Gänsen stimmt überein mit der von Kleine und Möllers (7) gefundenen, bei intramuskulärer Benutzung eines durch junge Gänse wiederholt intramuskulär passierten Gansvirus.

Ein weiterer Unterschied gegenüber dem Virus der jungen Gänse ergab sich bei der Wiederholung der Abschwächungsversuche dieses mittels subduraler Infektion gewonnenen Virus.

Tabelle IV.
Rückenmark der subdural infizierten alten Gänse, intramuskuläre Infektion von Hühnern.

Huhn No.	Zeit des Trocknens über Kali causticum bei 22°	Injektionsmenge	Resultat
1	8 Tage	2 ccm	tot nach 2 Tagen
2	10 „	2 „	„ „ 2 „
3	12 „	2 „	„ „ 3 „
4	16 „	2 „	„ „ 3 „
5	20 „	2 „	„ „ 3 „

Diese Versuche ergeben, daß dieses Virus sich durch Trocknen über Kali causticum bei 22° analog verhält wie Hühnervirus, indem noch 20 Tage lang getrocknetes Rückenmark sich für Hühner intramuskulär infektiös erweist, also ein weiterer Unterschied gegenüber dem Virus der intramuskulär infizierbaren jungen Gans. Es war noch die früher angeregte Frage zu erörtern, ob das Zentralnervensystem dieser Gänse frei von den spezifischen Körperchen sei und sich ähnlich verhielte wie das Zentralnervensystem der Hühner. Die diesbezüglichen Untersuchungen, welche in einer eigenen Arbeit noch genauer behandelt werden, zeigten, daß das Gehirn der subdural infizierten Gänse spezifische Körperchen aufweist, im Gegensatz zu Hühnern, bei welchen diese Körperchen überhaupt nicht gefunden wurden. Allerdings muß bemerkt werden, daß diese bei den subdural infizierten Gänsen gefundenen Körperchen, sowohl was Größe und Anzahl betrifft, weit den Befunden nachstehen, die Schiffmann bei den intramuskulär infizierten Gänsen erhoben hat. Immerhin müssen wir aber nach dem Ausfall dieser Versuche und der vorangehenden sagen, daß die Körperchen in der von uns anfangs vermuteten Beziehung zur Abschwächung des Virus nicht stehen dürften. Das Gehirn und Rückenmark der jungen intramuskulär infizierten Gänse läßt sich abschwächen, das Rückenmark der älteren subdural infizierten Gänse läßt sich noch nach 20 Tagen nicht abschwächen.

III.

Nach den vorangehenden Versuchen war es naheliegend, die Abschwächung des Gansvirus der intramuskulär infizierten jungen Gänse als Immunisierungsmethode zu benutzen. Nachdem es uns gelungen war, das Gansvirus über Kali causticum derart abzuschwächen, daß es weder für junge Gänse noch für Hühner infektiös war, versuchten wir zunächst mit einmaliger Injektion eines getrockneten nicht infektiösen Markes bei Hühnern Immunität zu erzeugen. Es hat sich er-

geben (Tab. II), daß durch einmalige Injektion und nachträglicher Infektion mit virulentem Mark eine Immunität bei Hühnern nicht zu erzielen war. Die Versuche, durch wiederholte Immunisierungen Hühner zu schützen, können dermalen nicht fortgesetzt werden, da mittlerweile junge Gänse uns nicht mehr zur Verfügung standen.

Immunisierung von jungen Gänsen mit getrocknetem Rückenmark intramuskulär infizierter junger Gänse.

Gans 1 und 2 erhalten intramuskulär am 15. Okt. 10 Tage lang getrocknetes Mark[1])
do. „ 28. Okt. 5 do.
do. „ 2. Nov. 4 do.
do. „ 9. Nov. 2 do.
do. „ 23. Nov. frisches Mark, bleiben am Leben
do. „ 7. Dez. Virus Huhn, bleiben am Leben
Gans 2 erhält „ 19. Dez. Virus Huhn subdural, bleibt am Leben
Gans 3 (Kontrolle) „ „ 23. Nov. frisches virulentes Gänsemark, zeigt am 29. Nov. schwere Lähmungen, dergl. am 3. Dez., am 18. Dez. gebessert
Huhn (Kontrolle) „ „ 23. Nov. frisches virulentes Gänsemark (gleiche Emulsion wie bei Gans 1, 2 u. 3) nach 3 Tagen tot.

Analoge Versuche wie mit Hühnern wurden, wie aus dem vorangehenden Protokoll hervorgeht, an jungen Gänsen angestellt, welche einige Injektionen verschieden lang getrockneten Rückenmarkes intramuskulär infizierter junger Gänse bekamen und sich gegen virulentes Virus als immun erwiesen haben. Allerdings müssen wir diesen Schluß mit einer gewissen Reserve aussprechen, insofern als in der Zeit, in der wir die Prüfung mit virulentem Virus vornahmen, die Gänse keine absolute Empfänglichkeit mehr für das Virus zeigten. Die Kontrollgänse erkrankten zwar schwer auf Injektion von virulentem Virus, gingen jedoch erst spät zu Grunde. Auf Grund eines Versuches können wir aber vielleicht doch annehmen, daß bei diesen Gänsen mit dem abgeschwächten Mark sich eine aktive Immunität erzielen ließe, nachdem eine Gans auch gegen die subdurale Infektion mit Hühnermark sich immun erwiesen hatte. Jedenfalls müssen diese Versuche mit jungen Gänsen wiederholt und die Zahl der Versuche erweitert werden. Nach alledem ist es aber wahrscheinlich, daß ein im Zentralnervensytem junger Gänse lokalisiertes Virus, durch Austrocknen über Kali causticum ein Vaccin zur aktiven Immunisierung darstellen dürfte.

IV.

Intramuskuläre Immunisierung alter Gänse mit getrocknetem Rückenmark Huhn, gegen subdurale Infektion mit virulentem Rückenmark Huhn.

1) Gans roter Kopf am 28. Nov. 20 Tage getrocknetes Hühnermark
do. „ 15. Dez. 10 „ „ „
do. „ 18. Dez. 5 „ „ „
do. „ 5. Jan. frisches Hühnermark intramuskulär, bleibt gesund
do. „ 24. Jan. frisches Hühnervirus subdural, bleibt gesund

2) Gans roter Hals am 28. Nov. 5 Tage getrocknetes Hühnermark
do. „ 12. Dez. 5 „ „ „
do. „ 7. Jan. frisches Hühnervirus intramuskulär, bleibt gesund
do. „ 24. Jan. frisches Hühnervirus subdural, bleibt gesund

1) Menge stets 2 ccm.

3) Gans blauer Hals am 2. Dez. 9 Tage getrocknetes Hühnermark
do. „ 8. Dez. 5 „ „ „
do. „ 5. Jan. frisches Hühnervirus intramuskulär, bleibt gesund
do. „ 24. Jan. frisches Hühnervirus subdural, bleibt gesund
4, 5) 2 Gänse (Kontr.) am 29. Jan. frisches Hühnervirus subdural (gleiche Emulsion wie die eben angeführten Versuchstiere), am 28. Jan. tot davon ein Huhn am 31. Jan. tot.

Interessant waren noch die Ergebnisse bei den Versuchen, ob die intramuskulär gegen Hühnervirus unempfänglichen Gänse, die nach unseren Versuchen von der Subdura zu infizieren sind, durch Immunisierung mit Hühnermark auch gegen eine subdurale Infektion zu schützen sind.

Die Versuche, wie die Protokolle lehren, wurden derart angestellt, daß alte Gänse mit zunächst getrocknetem, dann virulentem Virus subkutan vorbehandelt wurden. 20 Tage nach der letzten subkutanen Injektion virulenten Markes wurden die Gänse mit virulentem Hühnervirus subdural infiziert. Im Gegensatz zu den 2 Kontrollgänsen, welche typisch innerhalb von 3 Tagen zu Grunde gingen, deren Rückenmark sich für Hühner wieder als infektiös erwies, blieben die immunisierten Gänse am Leben.

Wir können demnach aus diesen Versuchen schließen, daß man die subkutan gegen Hühnervirus unempfänglichen, wohl aber subdural empfänglichen Gänse sicher gegen virulentes subdural eingebrachtes Mark schützen kann.

Wenn wir die Resultate der bisherigen Versuche, welche in dieser Richtung fortgesetzt werden sollen, überblicken, so ergeben sich daraus folgende neue Tatsachen:

1) Es gelingt, das Rückenmark junger Gänse, die intramuskulär zu infizieren sind, mittels Austrocknung bei 22° derart abzuschwächen, daß es für Hühner nicht virulent ist. Im Gegensatz dazu gelingt es nicht, selbst 20 Tage getrocknetes Rückenmark von Hühnern und subdural infizierten älteren Gänsen in seiner Virulenz zu verändern.

2) Die bei intramuskulärer Infektion unempfänglichen alten Gänse lassen sich subdural sicher mit Hühnermark infizieren. Im Zentralnervensystem dieser Gänse sind spezifische Hühnerpestkörperchen nachweisbar.

3) Mit dem Rückenmark der intramuskulär infizierten Gänse, welches getrocknet ist, lassen sich Gänse gegen virulentes Mark intramuskulär infizierter junger Gänse schützen.

4) Die von der Subdura aus infizierbaren Gänse, die intramuskulär unempfänglich sind, lassen sich aktiv mit Hühnermark von der Subcutis aus gegen subdurale Infektion mit virulentem Hühnermark immunisieren.

Literatur.

1, 4) Maggiora und Valenti, Accad. med. di Modena 1904 (zit. bei Russ). Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. XLVIII.
2) Maue, Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte 1904.
3) Russ, Archiv f. Hygiene. Bd. LIX.
5) Kleine, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. LI.
6) Schiffmann, Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 45.
7) Kleine und Möllers, Centralb. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIX.

Untersuchungen über Rotlaufimmunität bei Serumimpfung.

Von Tierarzt **M. Prettner**, Prag, Zentralschlachthaus.

Der Mechanismus der kombinierten Impfung mit Serum und Kultur bei der Rotlaufseptikämie ist noch keineswegs aufgeklärt. Eine größere Reihe von Versuchen mit Mäusen und Tauben, denen verschiedene Dosen von Serum und Kultur gegeben wurden, um die Höhe der nachher entstandenen Immunität zu untersuchen, lehrte, daß nur dann eine höhere Immunität erreicht wird, wenn die Serummenge zwar groß genug ist, um tödliche Infektion zu verhindern, aber dabei doch so klein, daß der Organismus selbst noch stark aktiv sich an der Vernichtung der Bakterien beteiligen muß. Weitere Versuche über die Wirkung des Rotlaufserums zeigten, daß weder im Reagenzglase noch im Tierkörper von einer Bakterizidie gesprochen werden kann. Diese Versuche sollen hier kurz Erwähnung finden.

I.
Die bakterizide Wirkung des Serums in vitro.

a) Eine 48-stündige Rotlaufbacillenkultur wurde mit hochwertigem Serum gemischt:

0,1 ccm Kultur + 0,1 ccm Serum
0,1 „ „ + 0,3 „ „
0,1 „ „ + 0,5 „ „

Diese Gemische wurden 24 Stunden bei 37° C gehalten. Nach 24 Stunden wurde zentrifugiert, mit reichlicher physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen und wieder zentrifugiert, dann mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und Mäusen subkutan injiziert. Von je einer Eprouvette wurden 5 Mäuse mit je 0,02 ccm Kultur geimpft. Alle Mäuse starben innerhalb 3—4 Tagen.

b) 10 ccm einer 48-stündigen Bouillonkultur wurden zentrifugiert. Der Satz wurde in 0,1 ccm hochwertigen Serums aufgeschwemmt und 24 Stunden im Thermostaten bei 37° C gehalten. Nach 24 Stunden wurde zentrifugiert. Das abgegossene Serum, welches vor dem Zusatz der Bakterien den Titer 0,01 ccm = 0,01 ccm Kultur hatte, wurde wieder auf seinen jetzigen Schutzwert geprüft. Zu diesem Zwecke wurde das von den Bakterien befreite Serum mit physiologischer Kochsalzlösung gemischt und 10 Mäusen je 0,01 ccm gegen 0,01 ccm Kultur eingeimpft. Alle Mäuse blieben am Leben. Vier Kontrollmäuse, welche nur mit 0,01 ccm Kultur geimpft worden waren, starben binnen 3 Tagen. Das benutzte Serum stammte vom Pferd. Es wurde derselbe Versuch

mit dem Serum vom immunisierten Rinde und Büffel mit dem gleichen Erfolge wiederholt, da alle 20 zum Versuche benutzten Mäuse am Leben blieben, während die 4 Kontrolltiere binnen 3 Tagen starben.

Die nächste Frage, die zu beantworten war, ging dahin, ob denn im Körper passiv immuner Tiere von Bakterizidie etwas zu finden sei. Dementsprechend wurde eine Anzahl von Versuchen angestellt, und zwar:

II.
Die Wirkung des Serums im Tierkörper.

a) 4 Mäuse erhalten 0,1 ccm Kultur gemischt mit 0,1 ccm hochwertigem Rotlaufschutzserum intraperitoneal injiziert. Nach 24 Stunden werden zwei getötet, ihre Milz, Leber, Niere mit Bouillon verrieben und je 2 Mäusen intraperitoneal 0,1 ccm davon injiziert. Alle Mäuse starben. Die mit den Nieren injizierten am 3. Tage, die mit der Leber und Milz injizierten binnen 4—5 Tagen. Die Rotlaufbacillen sind bei ihnen mikroskopisch und kulturell in allen Organen nachweisbar. Die 2 mit dem Serum + Kultur als Kontrolltiere für die Wirkung des Serums benutzten Tiere blieben am Leben. Diese experimentelle Tatsache spricht noch nicht ganz klar gegen die direkte Wirkung des Serums auf die Rotlaufbacillen im Tierkörper. Es könnte noch angenommen werden, daß zwar ein großer Teil der Bakterien durch das Serum in der Bauchhöhle vernichtet würde, trotzdem aber einzelne in den Kreislauf gelangten.

b) 4 Mäuse erhalten 0,1 ccm Serum + 0,01 ccm Kultur intraperitoneal; nach 24 Stunden wurden 2 getötet; ihre Organe wurden, wie oben beschrieben, zerrieben und je 2 Mäusen intraperitoneal injiziert. Alle Mäuse starben an Rotlaufseptikämie binnen 4—5 Tagen. Die 2 nicht getöteten Mäuse blieben am Leben.

c) 4 Mäuse erhalten intraperitoneal 0,1 ccm spezifischen Serums, nach 24 Stunden 0,01 ccm Kultur. Nach weiteren 24 Stunden werden 2 getötet, ihre Organe zerrieben und je 2 Mäusen intraperitoneal injiziert. Alle diese Mäuse sterben bis zu 3—4 Tagen. Die 2 am Leben gelassenen bleiben. Es vernichtet somit das spezifische Serum in selbst erhöhter Dosis gegenüber einer kleineren Infektionsmenge und auch 24 Stunden vorher injiziert nicht die Bakterien innerhalb 24 Stunden. Es beweist diese experimentelle Tatsache, daß das Serum die Bakterien nicht direkt im Organismus beeinflußt und ihre Verbreitung nicht verhütet, daß es den Organismus nur in einen besonderen Zustand setzt, die Infektion langsam in einer gewissen Zeit zu überwinden.

Auch die ausgeführten Plattenversuche zeigten, daß das Rotlaufserum keine bakterizide Wirkung ausübt.

Eine Ziege wurde gegen Rotlauf immunisiert, und nach jeder Infektion das Serum auf seine Bakterizidie untersucht, und zwar:

7 Tage nach der ersten intravenösen Injektion von 30 ccm Bouillonkultur
8 „ „ „ zweiten „ „ „ 50 „ „
10 „ „ „ dritten „ „ „ 80 „ „
14 „ „ „ vierten „ „ „ 100 „ „

Das Serum schützte danach Tauben gegen 0,5 ccm Kultur in der Dosis von 1 ccm.

Nach zwei weiteren Injektionen von 160 ccm und 200 ccm Kultur schützte das Serum Tauben gegen die Infektion mit 0,5 ccm Kultur in der Dosis von 0,5 ccm.

Der nach den gewöhnlichen Regeln bakteriologischen Untersuchungen angestellte Reagenzglasversuch mit dem jedesmal ganz frischen Serum der Ziege (je 1 ccm, Einsaat 0,01 ccm Bouillonkultur) ließ niemals eine wesentliche Keimverminderung, ja auch nur Entwickelungshemmung erkennen.

Aus allen diesen Versuchen geht wohl sicher hervor, daß das Rotlaufserum nicht wie bis jetzt angenommen wurde, ein bakterizides Serum im gewöhnlichen gebrauchten Wortsinne ist, sondern daß es nur Stoffe enthält, welche den Organismus in nicht näher bekannter Weise in den Stand setzen, die in den Körper gelangten oder eingespritzten Bakterien unschädlich zu machen. Es lag natürlich nahe, in erster Reihe in den Leukocyten Schutzvorrichtungen zu suchen, worüber die nachfolgenden Versuche Aufschluß geben sollten.

III.

22. November.

a) Eine Maus erhält 3 Uhr nachm. 0,1 ccm Serum + 0,01 ccm Kultur ip.
b) „ „ „ 3 „ „ 0,01 „ „ + 0,01 „ „ „
c) „ „ „ 3 „ „ 0,01 Kultur

Nach 1 Stunde wurde mittels Kapillare etwas Peritonealflüssigkeit entnommen und mikroskopisch untersucht. Es fanden sich in

a) Makrophagen und polynukleäre Zellen, viele basophile Leukocyten, keine Bacillen;

b) der gleiche Befund;

c) viel Makrophagen, mehr polynukleäre Leukocyten, äußerst spärliche Bacillen.

Nach 24 Stunden: a) polynukleäre Leukocyten, weniger Makrophagen;

b) der gleiche Befund;

c) Makrophagen massenhaft, weder Phagocytose noch Bacillen.

24. November. Nach 40 Stunden: a und b) Makrophagen mit sehr viel Lymphocyten, viele basophile Zellen, keine Bacillen;

c) fast reiner Makrophageneiter, keine Bacillen.

24. November. Nach 48 Stunden: a und b) Eiter, keine Phagocytose, keine Bacillen.

c) Makrophagen, Eiter, keine Phagocytose, freie Bacillen.

Kontrollmaus c) nach 50 Stunden tot.

Die Sektion ergab sehr viele Bakterien im Blute und den Organen, in dem Peritonealbelag waren nur ganz einzelne Bacillen zu finden. Die Mäuse a, b) blieben am Leben.

Offenbar erfolgt bei ip. Impfung kleiner Bacillenmengen in der Bauchhöhle keine besondere Vermehrung. Die Bacillen verlassen sie sehr rasch, und das Schicksal des Tieres entscheidet sich in den Organen. Um aber über eine etwaige Beeinflussung der Bacillen durch das Serum Aufschlüsse zu erhalten, wurden größere Kulturmengen eingeführt.

IV.

25. November.

1) a) 2 Mäuse erhalten 0,01 ccm Serum + 0,1 ccm Kultur intraper.
b) 2 „ „ 0,1 „ „ + 0,1 „ „ „
2) a) 2 „ „ 0,1 „ „ + 0,5 „ „ „
b) 2 „ „ 0,25 „ „ + 0,5 „ „ „
c) 1 Kontrollmaus 0,5 „ Kultur

Entnahme 1/4 Stunde nach der Infektion:
1) a) Mäßig zahlreiche Makrophagen mit vereinzelten basophilen Zellen. Spärliche Phagocytose, viele freie Bacillen;
b) ebenso viel Bacillen.
2) a) sehr wenig Zellen, viel Bacillen;
b) ebenso;
c) sehr viel Bacillen, fast keine Zellen.

Entnahme nach 8 Stunden:
1) a, b) Makrophagen, Eiter, keine Phagocytose, viele basophile Zellen, keine Bacillen.
2) a, b) Makrophagen, keine Phagocytose, keine Bacillen;
c) starke Vermehrung der Bacillen, wenig Zellen.

Entnahme nach 24 Stunden:
1) a, b) Makrophagen, Eiter, keine Bacillen, keine Phagocytose.
2) a, b) Eiter zu etwa gleichen Teilen aus Makrophagen und polynukleären Zellen, letztere enthalten sehr intensiv gefärbte Körnchen.

Kontrolltiere tot (in 24 Stunden) Bauchhöhle und Blut voll von Bakterien.

Die übrigen Mäuse bleiben am Leben. Somit verschwinden auch bei enorm großer Injektion von Kulturen die Bakterien bei gleichzeitiger Injektion von Serum rasch aus der Bauchhöhle. Eine direkte Bacillenauflösung wurde dabei aber nicht beobachtet. Dagegen bleiben größere Mengen von Bacillen in der Bauchhöhle und kommen auch zur Vermehrung, offenbar gleichzeitig mit denen, die, wie der frühere Versuch zeigt, frühzeitig in Organe eindringen. Um über die Bedeutung der Leukocyten bei der Infektion genauere Aufschlüsse zu erhalten, wurden weitere Versuche angestellt.

V.

3 Mäuse erhalten je 0,5 ccm Bouillon intraperitoneal, um eine Leukocytenansammlung hervorzurufen, nach 24 Stunden.
1) a) 0,001 ccm Serum + 0,1 ccm Kultur intraper.
b) 0,005 „ „ + 0,1 „ „ „
c) nur 0,1 ccm Kultur
2) 3 Mäuse ohne Vorbehandlung geimpft wie die vorigen.

Entnahme nach 6 Stunden:
1) a) Makrophagen, Eiter in den polynukleären Zellen, Körnchen, keine Bacillen;
b) ebenso;
c) viel Cytophagocytose, wenig Bacillen.
2) a) Viel weniger Zellen als bei den vorigen Tieren, keine Bacillen;
b) ebenso;
c) viel Makrophagen, viel freie Bacillen.

Nach 24 Stunden:
1) a) Makrophagen, Eiter, ohne Bacillen;
b) ebenso;
c) viel freie Bacillen.
2) a) Eiter mit Makrophagen ohne Bacillen;
b) ibidem;
c) Makrophagen, Eiter, viel freie Bacillen.

Die Mäuse der Reihe 2 sterben sämtlich nach 48 Stunden.

Von den Mäusen der Reihe 1 sterben a und b am 4. und am 3. Tage nach der Impfung, überleben also die anderen um 48 Stunden um 24 Stunden.

Obwohl bisher kein Anhaltspunkt dafür gewonnen werden konnte, das Rotlaufserum als ein bakterizides zu betrachten, vielmehr alle Versuche in vitro, wie in vivo von Bakteriolyse nichts erkennen ließen, schien es doch angezeigt, auch den Einfluß sogenannter komplementbindender Mittel zu untersuchen. Als solches wurde das Präzipitat verwendet, das bei Vermischung von Choleraextrakt nach Bassenge-Mayer mit aktivem Rinderserum entsteht. Wie Weil gezeigt hat, ist ein solches im stande, die Infektion zu befördern und sowohl die bakteriologische Wirkung von Choleraimmunserum aufzuheben, als auch ein im Tierkörper nicht bakterizid wirkendes Schutzserum (Hühnercholera) seines Schutzwertes zu berauben. Weil schloß daraus, daß dasjenige, was im Tiere durch Anwendung des Präzipitates beseitigt wird (Komplement?) auch wenn es nicht bakterizid wirkte, doch sehr bedeutungsvoll für den Organismus sei. Andererseits hatte bereits Weil gefunden, daß die schädliche Wirkung der sogenannten Komplementbindung durch Ansammlung von Leukocyten in der Bauchhöhle paralysiert werden kann.

VI.

a) 2 Mäuse erhalten 0,01 ccm Serum (schützende Dosis) + 0,1 ccm Kultur, und gleichzeitig noch das Präzipitat aus Choleraextrakt mit Rinderserum (entsprechend 1 ccm Extrakt);

b) 2 Mäuse erhalten die gleiche Injektion von Serum, Kultur und Präzipitate waren aber 24 Stunden vorher mit 0,5 ccm Bouillon ip. vorbehandelt;

c) 2 Kontrolltiere 0,01 ccm Serum + 0,1 ccm Kultur.

Entnahme nach 1 Stunde:

a) wenig Leukocyten, ziemlich zahlreiche Bakterien;
b) Eiter, viel Makrophagen, keine Bacillen;
c) mäßig zahlreiche Lymphocyten und sehr wenig Bakterien.

Nach 12 Stunden:

a) Starke Bakterienvermehrung;
b) viele Zellen, keine Bacillen, keine Phagocytose;
c) massenhaft Zellen, keine Bacillen.

Die mit Präzipitat geimpften Tiere ohne Vorbehandlung (a) starben in 40 Stunden mit positivem Bacillenbefund, die übrigen bleiben am Leben. Tatsächlich hat das Cholerapräzipitat, ganz ähnlich in den Versuchen Weils mit Hühnercholera die Immunserumwirkung aufgehoben, während es bei Anwesenheit von Zellen dagegen machtlos war.

Es mußte noch untersucht werden, inwiefern die Leukocyten am Verschwinden der Bakterien beteiligt sind, namentlich über die Stärke der Phagocytose, die bisher nur in recht geringem Grade gelegentlich gefunden worden war, sollten eigene Versuche Aufschluß geben.

VII.

a) 2 Mäuse erhalten 0,5 ccm Bouillon intraperitoneal, nach 24 Stunden 0,01 ccm Serum + 0,1 ccm Kultur;

b) 2 Mäuse 0,01 ccm Serum + 0,1 cm Kultur;

c) 2 Mäuse 0,1 ccm Serum + 0,1 ccm Kultur;

d) eine Immunmaus von der Reihe (IV, 2 b) nur 0,1 ccm Kultur.

Entnahme nach 20 Minuten:
a) wenig Bacillen, viel Zellen, keine Phagocytose;
b) ebenso
c) "
d) "

Nach 40 Minuten:
a) zahlreiche Leukocyten, keine Phagocyten;
b) " " keine Bacillen mehr;
c) " " wenig Bacillen;
d) " " keine Bacillen;

Nach 80 Minuten:
b) keine Bacillen mehr;
c) " " "

Es scheint somit tatsächlich das Verschwinden der Bacillen bei Gegenwart von Zellen wesentlich rascher zu erfolgen, und es liegt sehr nahe, den Grund hierfür in Phagocytose zu suchen. Es wurde aber eine solche auch jetzt kaum beobachtet, ein höchst auffallendes Ergebnis, das noch weiter untersucht werden muß. Wollte man annehmen, daß durch die nachherige Bouilloninjektion in der Bauchhöhle nicht nur die Zellen, sondern auch die bakteriologischen Wirkungen der Flüssigkeit gestiegen seien, so bleibt unerklärlich, daß man von Auflösungserscheinung an den Bacillen gar nichts sehen kann. Ueberdies lehrt der Metschnikoffsche Versuch mit Choleravibrionen (Bail, Weil, Aksamit), daß bei großem Zellreichtum die sichtbare Bakteriolyse nicht nur nicht verstärkt, sondern sistiert oder doch geschwächt wird.

Schließlich mußte noch untersucht werden, ob die Bacillen in der Bauchhöhle selbst völlig zerstört werden, oder ob sie, wie nach früheren Versuchen wahrscheinlich war, in die Organe gelangen und dort längere oder kürzere Zeit nachweisbar bleiben.

VIII.

2 Mäuse erhalten 0,5 ccm Serum + 0,01 ccm Kultur ip. Nach 3 Tagen werden sie getötet, ihre Organe (Niere, Milz, Leber) mit Bouillon verrieben, und je einer Maus injiziert (6 Mäuse zusammen): alle Mäuse blieben am Leben.

IX.

2 Mäuse erhalten 0,01 ccm Serum + 0,1 ccm Kultur, nach 6 Tagen werden sie getötet, ihre Organe mit Bouillon verrieben, und je einer Maus injiziert, alle Mäuse sterben binnen 3—4 Tagen.

Bei Injektion von viel Serum mit wenig Kultur sind somit nach 3 Tagen keine Bacillen mehr nachweisbar, hingegen bleiben sie bei geringeren, wenn auch zum Schutze völlig ausreichenden Serummengen in den Organen lebensfähig und virulent. Von einer bakteriolytischen Wirkung kann somit im letzten Falle sicher nicht gesprochen werden. Damit reiht sich auch der Schweinerotlaufbacillus jenen rätselhaften Fällen von Immunität an, wo die virulenten Erreger ohne an Lebenskraft und Pathogenität einzubüßen, im immunen Tiere ohne Schaden für dasselbe verweilen können. Ganz Aehnliches ist von Bail und von Sobernheim beim Milzbrand, von Weil für Hühnercholera und Schweineseuche beobachtet worden, zum Teil sogar mit Vermehrung der Bacillen beim immunen Tiere. Ganz entsprechend den Resultaten, die Weil bei der Hühnercholeraimmunität fand, hebt auch bei der Wirkung

des Schweinerotlaufserums die Anwendung sogenannten komplementbindender Mittel die Schutzkraft des Serums auf. Daraus etwa die bakteriolytische Natur des Rotlaufserums erschließen zu wollen, wäre verfrüht, solange die Natur der Komplementbindung noch nicht besser wie bisher aufgeklärt ist. Die eigentümliche Wirkung, welche die Leukocyten haben, bei deren Anwesenheit trotz Komplementbindung der Schutz des Serums weiterbesteht, weist auf diese als Träger wichtigen, vielleicht entscheidenden Funktionen hin.

Literatur.

1) Bail, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVI. 1904.
2) Sobernheim, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXI. 1889; Berl. klin. Wochenschr. 1902.
3) Weil, Arch. f. Hygiene. Bd. LIV.
4) Weil, Archiv f. Hygiene.
5) Prettner, Tierärztliches Centralbl. 1906.
6) Prettner, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. der Haustiere. 1907. No. 3.

Die quantitative Bestimmung der Erythrocytenopsonine.

[Aus dem Lister Institute of Preventive Medicine, London.]

Von **J. O. Wakelin Barratt** in Liverpool.

Wenn man zu Leukocyten, welche in einem durch 30 Minuten langes Erhitzen auf 58 ° C [1]) inaktivierten Serum enthalten sind, fremde rote Blutkörperchen zusetzt, kann man die sogenannte spontane Phagocytose der roten Blutkörperchen beobachten. Wenn man die roten Blutkörperchen vorher sensibilisiert hat, indem man auf sie mit dem inaktivierten Serum eines Tieres einwirkte, in dessen Bauchhöhle ebensolche rote Blutkörperchen (vorher in Kochsalzlösung gewaschen) bei verschiedenen Gelegenheiten eingespritzt worden sind, so werden die roten Blutkörperchen von den Leukocyten in merklich größerer Zahl aufgenommen, doch ist wegen des Eintritts der spontanen Phagocytose diese Zunahme einer quantitativen Messung nicht zugänglich.

Bei Mischung von roten Blutkörperchen, Leukocyten und Serum — alle von demselben Tiere stammend — tritt keine Phagocytose in Erscheinung. Wenn aber die roten Blutkörperchen vorher sensibilisiert worden sind durch ein fremdes Serum, in welchem Opsonin sich entwickelt hat infolge der wiederholten intraperitonealen Injektion von ebensolchen roten Blutkörperchen, tritt Phagocytose auf [2]).

In diesem Fall ist das Verhalten der Leukocyten gegenüber den roten Blutkörperchen vor und nach der Sensibilisation völlig von dem obigen verschieden. Daher nahm ich Versuche vor, um festzustellen, ob diese Verschiedenheit sich als eine Grundlage für eine Bestimmungsmethode von Opsonin in Anspruch nehmen ließe.

---

1) Um so die Komplemente vollständig zu zerstören und die Zerstörung der roten Blutkörperchen durch irgend ein im Serum enthaltenes Hämolysin zu verhindern.

2) Barratt, The Phagocytosis of red blood corpuscles. (Proceedings of the Royal Society. Ser. B. Vol. LXXVII. 1906. p. 531); On opsonins in relation to red blood cells. (Ibid. Vol. LXXIX. p. 1.)

Ich stellte also Versuche an unter Verwendung von roten Blutkörperchen und Leukocyten des Meerschweinchens; das Serum, in welchem die Leukocyten während des Versuches gehalten wurden, war gleichfalls das (inaktivierte) Serum des Meerschweinchens, und das zur Sensibilisation verwandte Serum stammte von einem Kaninchen, welches bei drei Gelegenheiten intraperitoneale Einspritzungen von gewaschenen roten Blutkörperchen des Meerschweinchens erhalten hatte.

Es wurden zu dem inaktivierten Serum des eingespritzten Kaninchens die roten Blutkörperchen des Meerschweinchens in den in Tabelle 1 angegebenen Mengen zugesetzt, wobei das Verhältnis des

Tabelle 1. Ausziehung des Opsonins aus dem Serum eines Kaninchens[1]) mittels der roten Blutkörperchen des Meerschweinchens. Versuchstemperatur 37°—38° C.

Nummer des Versuchs	Verdünnung des Serums	$\frac{B}{S}$[2])		Phagocytoseproben. [Die Dauer der Wirkung der roten Blutkörperchen ist in Klammern angegeben.]								
				[5 Min.]	[20 Min.]	[40 Min.]	[1 St.]	[1½ St.]	[2 St.]	[3 St.]	[4 St.]	[5 St.]
				Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
1	1 in 8	8:1							0			
2	unverdünnt	4:1							0			
3	1 in 8	2:1							0			
4	unverdünnt	1:1							0			
5	do.	1:1,6				0	0		0			0
6	1 in 8	1:2							0			
7	1 in 2	1:2			0		0				0	0
8	1 in 8	1:4							0			
9	unverdünnt	1:4							0			
10	do.	1:4		20	1			0		0		
11	1 in 8	1:4		10	5			0		0		
12	unverdünnt	1:4		2	3			2		0,5		
13	1 in 8	1:4		2	1,5			1		0,7		
14	unverdünnt	1:4		4	0			0		0		
15	1 in 8	1:4		2	2			4		2		
16	unverdünnt	1:4		1	1,5			0,4		0,2		
17	1 in 8	1:4		2	0			4		3		
18	unverdünnt	1:4			0			1		1		
19	1 in 8	1:4			0			0		0		
20	1 in 8	1:4		10	5	4						
21	1 in 8	1:4			1,5	1,5						
			Mittel von 10 bis 21	6	1,7	2,7		1,2		0,74		

1) Dem Kaninchen wurden vorher einige Male gewaschene rote Blutkörperchen des Meerschweinchens eingespritzt.

2) Die roten Blutkörperchen des Meerschweinchenblutes (B) wurden zum Kaninchenserum (S) in den angegebenen Verhältnissen zugesetzt. Z. B. $\frac{B}{S} = 8:1$ bedeutet, daß die roten Blutkörperchen von 8 Teilen Meerschweinchenblut zu einem Teil Kaninchenserum zugesetzt wurden.

letzteren zu dem ersteren schwankte zwischen 8:1 bis 1:4 und die Dauer der Einwirkung der roten Blutkörperchen auf das Serum sich bewegte zwischen 5 Minuten und 5 Stunden bei einer Temperatur von 37° C. Die roten Blutkörperchen wurden dann durch Zentrifugieren entfernt und das Serum auf Opsonin geprüft durch Zusetzen frischer roter Blutkörperchen im Verhältnis von ungefähr 0,0025 ccm auf 1 ccm Serum und zweistündiges Schütteln bei 37° C; dann werden diese roten Blutkörperchen den Leukocyten des Meerschweinchens zugesetzt und die Zahl der Leukocyten, welche rote Blutkörperchen aufgenommen hatten, festgestellt (es wurden 2000 bis 4000 Leukocyten gezählt), und in Tabelle 1 in Prozenten ausgedrückt. Es zeigte sich, daß Verschiedenheiten in den gefundenen Prozenten unvermeidlich waren; diese sind augenscheinlich hauptsächlich der verschiedenen funktionellen Veranlagung der Leukocyten zuzuschreiben. Durch Anstellung zahlreicher Beobachtungen wurde jedoch der störende Einfluß dieses Umstandes bedeutend verringert.

Aus diesen Versuchen geht hervor (Tabelle 1), daß Opsonin sich aus dem Serum unter der Bedingung ausziehen läßt, daß die roten Blutkörperchen von nicht weniger als 1 Teil Meerschweinchenblut auf 2 Teile Serum in Verwendung kommen; daß ferner, wenn die roten Blutkörperchen im Verhältnis von 1 Teil Meerschweinchenblut auf 4 Teile Serum verwendet werden, die Ausziehung von Opsonin unvollständig war. Ferner zeigte sich, daß in einer Zeit von 5 Minuten eine Deopsination weniger vollständig war als in einem Zeitraum, der über 1 Stunde hinausgeht.

Es galt zunächst, den höchsten Betrag an roten Blutkörperchen, welchen eine gegebene Menge Serum zu sensibilisieren vermag, festzustellen; zu diesem Zweck wurden die in Tabelle 2 verzeichneten Versuche gemacht. Aus den Versuchen geht hervor, daß man den geringsten Betrag an roten Blutkörperchen, welcher völlig sensibilisiert werden kann, erhält, wenn die roten Blutkörperchen eines Teiles Meerschweinchenblut zu einem Teil Kaninchenserum zugesetzt werden, und daß man keine Vorteile durch Verwendung einer größeren Opsoninmenge erlangt, während sich herausstellte, daß ein kleinerer Betrag Serum nicht ausreicht zur Herbeiführung einer völligen Phagocytose[1]) oder vielleicht zur Auslösung einer Phagocytose überhaupt. Eine andere wichtige Tatsache erhellt aus diesen Versuchen, nämlich daß der Sensibilisationsgrad der roten Blutkörperchen nicht merklich durch Verdünnung des Serums beeinflußt wurde. Wenn das letztere mit 6 oder 500 Teilen 0,85-proz. Kochsalzlösung verdünnt wurde, wurden die roten Blutkörperchen vollständig sensibilisiert, wenn das Verhältnis des Meerschweinchenblutes (nur die roten Blutkörperchen wurden verwendet) zu dem Kaninchenserum 1:1 betrug. Andere Versuche, die nicht in Tabelle 2 angegeben sind, bewiesen, daß keine Sensibilisationszunahme zu bemerken war bei Benutzung von weniger verdünntem Serum.

Nach den in Tabelle 2 aufgeführten Resultaten ist klar, daß wir durch Bestimmung des höchsten Betrages von Meerschweinchen-Erythrocytenopsoninen, welche Volumeinheit von Kaninchenserum der völligen Sensibilisation fähig ist, in der Lage sind, das dem Serum entsprechende

1) Dies soll heißen, daß 2—6 Proz., in vereinzelten Fällen bis 10 Proz. der Leukocyten nach Verlauf von 2 Stunden bei 37° C rote Blutkörperchen aufgenommen haben. Die sensibilisierten roten Blutkörperchen wurden im Ueberschuß den Leukocyten zugesetzt.

Tabelle 2. Versuche zur Bestimmung des Grades, in welchem die roten Blutkörperchen des Meerschweinchens sensibilisiert werden müssen, um Phagocytose hervorzurufen. Das zur Sensibilisierung verwendete Serum stammte von einem mit roten Blutkörperchen eines Meerschweinchens eingespritzten Kaninchen. Wirkungsdauer des Serums auf die roten Blutkörperchen 2 Stunden. Versuchstemperatur 37° C.

Nummer des Versuchs	Phagocytoseproben [die Verdünnung des Serums steht in Klammern][1].														
	$\frac{B}{S} = 32:1$	16:1	8:1	4:1	3:1	2:1	1:1	1:1,5	1:2	1:3	1:4	1:6	1:8	1:12	1:24
	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.
1							0 (1 in 256)	2 (1 in 128)		3 (1 in 64)		6 (1 in 32)		5 (1 in 16)	5 (1 in 8)
2								0,6 (1 in 256)		0,6 (1 in 256)		0,6 (1 in 128)		0,4 (1 in 64)	1,2 (1 in 32)
3														2 (1 in 16)	0,6 (1 in 16)
4								1,3 (1 in 128)		3 (1 in 64)		4 (1 in 32)			
5							0,2 (1 in 512)	9 (1 in 256)		10 (1 in 128)		4 (1 in 64)			
6							2 (1 in 8)								
6							4 (1 in 16)								
6							4,5 (1 in 32)								
6							2 (1 in 512)								
7	0 (1 in 14)	0 (1 in 7)	0 (1 in 7)		1 (1 in 7)										
8			0 (1 in 10)	0 (1 in 10)		0,3 (1 in 7)	2 (1 in 5)								
9				0 (1 in 10)		0 (1 in 10)	0,3 (1 in 10)		0,6 (1 in 10)		1,4 (1 in 10)		0,7 (1 in 10)		
10				0 (1 in 100)		0,8 (1 in 100)	5 (1 in 100)		6 (1 in 100)		1,5 (1 in 100)		2 (1 in 100)		
11													6 (1 in 100)		
Mittel	0	0	0	0	1	0,4	2,2	3,2	3,3	4,2	1,4	3,6	2,9	2,5	2,2

1) Auf Phagocytose wurde geprüft mittels Sensibilisierung der gewaschenen roten Blutkörperchen des Meerschweinchenblutes (B) mit dem Serum (S) des Kaninchens in den angegebenen Verhältnissen. $\frac{B}{S} = 32:1$ bedeutet, daß 32 Teile Meerschweinchenblut und ein Teil Kaninchenserum genommen wurden. Nach Sensibilisierung wurden die roten Blutkörperchen in 0,85-proz. Kochsalzlösung gewaschen und den Leukocyten zugesetzt.

Tabelle 3. Der Grad der Ausziehung des Opsonins vom Kaninchenserum mittels der roten Blutkörperchen des Meerschweinchens. Die Dauer der Ausziehung schwankte zwischen 5 Minuten und 3½ Stunden. Nach Zentrifugieren wurden gewaschene Meerschweinchenerythrocyten zum Serum wieder zugesetzt in den angegebenen Verhältnissen, um Phagocytoseproben zu machen.

No. des Versuchs	$\frac{B}{S}$ während Ausziehung des Opsonins	Dauer der Ausziehung	Phagocytoseproben $\frac{B}{S}$ = 1:500	1:200	1:100			1:64	1:50	1:32	1:25	1:16	1:12	1:8	1:6	1:4	1:2	1:1	Annähernde Menge im Serum noch bleibenden Opsonins. (Am Anfang Opsonin im Serum = 100)
			Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz.	Proz	Proz.	Proz.
A 1	1:4	5 Min.	4			2	20		12	7	10	0	0,8	0	0,2	0	0	0	4
2	1:4	20 „	0	0	1	3	1		2		0,5		0,5		0				2
3	1:4	1½ St.	0	1	1,5	2	0	0	0										1
4	1:4	3½ „	0	1	0,4	0,5	0	0		0	0,5	0		0		0	0	0	<1
B 1	1:4	5 Min.						10 2		6	10 2		6		10		0		15
2	1:4	20 „						1,5 2	0	1	5 1,5 2				0,5		0		4
3	1:4	1½ St.						4	0		0 1 1		0,7		0				1,5
4	1:4	3½ „						2	0		0 0,7 0								<1,5
C 1	1:4	5 Min.						5	10 0	8				4		0,7	0	0	12
2	1:4	10 „						6	6 0	1				1,4		0	0	0	>2
3	1:4	20 „						2	5	3									>3
4	1:4	40 „							4	0		0		0		0	0	0	2
5	1:4	4 St.							0 0	0		0		0		0	0	0	—

Opsonin festzustellen und einen Vergleich mit anderen Sera in Betreff des Opsonins anzustellen. Ferner, wenn das in Frage stehende Serum unvollständig durch Zusetzen von roten Blutkörperchen des Meerschweinchens und darauffolgendes Zentrifugieren deopsiniert ist, ist es möglich, den Deopsinationsgrad zu bestimmen durch nochmaliges Zusetzen eines bestimmten Volums roter Blutkörperchen zu verschiedenen Serummengen, wobei man den Minimalbetrag des letzteren feststellt, welcher zur Herbeiführung einer völligen Sensibilisation nötig ist. Diese Serummenge nun enthält gerade so viel Opsonin wie die Serummenge, welche ursprünglich zur Sensibilisation des Volums der verwandten roten Blutkörperchen erforderlich war; hieraus ist die Prozentberechnung von Opsonin leicht zu machen. Auf diese Weise bestimmte ich die im teilweise deopsinierten Kaninchenserum beibenden Opsoninmengen, wie sie in Tabelle 3 niedergelegt sind. Der Zeitpunkt, an welchem die zugesetzten roten Blutkörperchen nicht mehr völlig sensibilisiert wurden, läßt sich mit hervorragender Deutlichkeit durch Phagocytoseproben angeben; nämlich eine völlige Sensibilisation trat ein, wenn 2 Proz. oder mehr Leukocyten rote Blutkörperchen aufnahmen. Ziemlich scharfe Grenzwerte erhält man durch hinreichend zahlreiche Phagocytoseproben, so daß dann die bestehenden niedrigen Werte, wenn die verwandten Leukocyten in nüchternem Zustande verwendet werden, nicht verhindern, daß der erreichbare Maximalgrad der Sensibilisation zum Ausdruck kommt; der Hauptwert wurde nämlich auf die Maximalwerte gelegt. Obgleich die Bestimmungen nicht die äußerste Feinheit besitzen, so liefern sie doch gute Annäherungswerte zu den wirklichen.

Zum Schluß gestatte ich mir, Herrn Dr. Allan Macfadyen, in dessen Laboratorium ich diese Arbeit ausführte, für seine stete Unterstützung, ohne die ich diese Arbeit wohl nicht hätte zu einem Ergebnis bringen können, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Ueber den Nachweis des Bakterienpräzipitinogens im Organismus.

[Aus der bakteriol. Untersuchungsanstalt für Unter-Elsaß, Straßburg. Oberleiter: Prof. Dr. Forster.]

Von Dr. W. Fornet,

Oberarzt beim 2. Schlesischen Feldartillerie-Regiment No. 42, kommandiert zur Anstalt.

Die Bedeutung der von Kraus im Jahre 1897 entdeckten „spezifischen Niederschläge“ wurde erst allgemeiner gewürdigt, als durch die Untersuchungen von Tchistowitsch, Bordet u. A. der Nachweis erbracht worden war, daß, wie es Kraus selbst schon vorhergesehen hatte, auch Eiweißstoffe verschiedenster Herkunft die Fähigkeit besitzen, nach ihrer Injektion in den Tierkörper die Bildung von Gegenstoffen zu veranlassen, welche, mit dem ursprünglich benutzten Eiweißkörper in geeigneter Weise zusammengebracht, spezifische Niederschläge erzeugen. Im Gegensatz zu diesen Eiweißpräzipitinen fanden die eigentlichen Bakterienpräzipitine nur verhältnismäßig selten eine praktische Anwendung. Da andere Gegenstoffe, wie die Bakteriolysine und Aggluti-

nine, noch in weit höheren Verdünnungen und außerdem mit geringeren technischen Schwierigkeiten nachweisbar sind, wurden sie auch entsprechend häufiger zur Differenzierung von Mikroorganismen und zur Diagnose am Krankenbett herangezogen.

Ich war nun von der Ueberlegung ausgegangen, daß dem Auftreten von Antikörpern die Anwesenheit von Antigenen im infizierten Organismus vorangehen müsse, und daß diese sich möglicherweise verhältnismäßig frühzeitig nachweisen lassen könnten. Am aussichtsvollsten schien mir die Untersuchung von geeigneten Blutsera auf ihren eventuellen Gehalt an Präzipitinogenen zu sein.

In der Tat gelang es mir, sowohl beim Tierversuch als auch bei Typhuskranken im Blutserum und im Urin Typhuspräzipitinogene nachzuweisen, und zwar zu einer Zeit, wo die Gruber-Widalsche Reaktion noch negativ ausfiel.

Ich hatte damals gehofft, recht bald eine eingehendere Arbeit über das Auftreten von Bakterienpräzipitinogenen im Organismus und deren diagnostische Verwertbarkeit bringen zu können, bis jetzt bin ich aber daran durch anderweitige Untersuchungen verhindert worden.

Eine in Heft 4 dieses Centralblattes erschienene ausführliche Arbeit von Victor K. Russ, welcher gegen meine Untersuchungen eine Reihe von Einwänden erhebt, veranlaßt mich, meiner ersten Veröffentlichung über diesen Gegenstand schon jetzt einige Einzelheiten hinzuzufügen, welche damals außerhalb des Rahmens einer vorläufigen Mitteilung liegen mußten.

Anläßlich einer Typhusepidemie hatte Russ Gelegenheit, mit einer Reihe von Patientensera die „Präzipitatreaktion“ anzustellen, d. h. sie auf ihren Gehalt an Typhuspräzipitinogenen zu prüfen.

Bei der Beurteilung seiner Ergebnisse müssen zunächst 3 Fälle außer Betracht bleiben, welche überhaupt nicht bakteriologisch bestätigt worden sind. Von den anderen 16 Fällen müssen ferner 12 als ungeeignet zur Entscheidung der Frage, ob Typhuspräzipitinogene vorhanden waren oder nicht, angesehen werden, und zwar aus folgendem Grunde: man muß von der Ueberlegung ausgehen, daß Bakterienpräzipitinogene Produkte der Bakterien, Bakterienpräzipitine dagegen erst Reaktionsprodukte des infizierten Organismus sind; der günstigste Zeitpunkt für den Nachweis der Präzipitinogene liegt also kurz nach der stattgehabten Infektion, jedenfalls aber vor dem Auftreten der Antikörper. Da nun die Präzipitine frühestens gleichzeitig mit den Agglutininen erscheinen, müssen alle diejenigen Fälle von Typhus als ungeeignet zum Nachweis von Typhuspräzipitinogenen gelten, welche, wie dies bei den 12 von Russ untersuchten Kranken der Fall ist, schon eine positive Gruber-Widalsche Reaktion aufweisen.

Demnach bleiben von Russ' 19 Fällen im ganzen nur noch 4 Fälle übrig, bei welchen die „Präzipitatreaktion“ hätte positiv ausfallen können; allerdings läßt sich aus dem beigegebenen Protokoll der Krankheitstag nicht ersehen; der Tag der Spitalaufnahme kann wohl kaum als der 1. Krankheitstag angesehen werden; vielmehr entspricht es den Erfahrungen unserer Anstalt, daß die Aufnahme in das Krankenhaus durchschnittlich erst am Ende der 1. oder am Anfang der 2. Krankheitswoche stattfindet; danach wären auch diese 4 Fälle erst nach dem für die Anstellung der „Präzipitatreaktion“ günstigsten Zeitpunkt zur Beobachtung gelangt. Auf einen weiteren Einwand, welcher alle 19 Fälle Russ' gleichmäßig trifft, komme ich noch später bei Besprechung

des von ihm als „Reaktionsserum“ verwendeten Typhusimmunserums zurück.

Wenn Russ ferner sagt, daß über das Verschwinden der präzipitinogenen Substanz im Organismus sich in der Literatur keine Angaben vorfinden, so kann sich dies wohl nur auf Bakterienpräzipitinogene beziehen, da über das Verschwinden der Eiweißpräzipitinogene ja Moro, Hamburger, Ascoli und v. Dungern eingehende Untersuchungen veröffentlicht haben.

Ueber das Auftreten und Verschwinden von Bakterienpräzipitinogenen habe ich zuerst versucht, Aufschluß zu gewinnen, ich infizierte Kaninchen intravenös mit Typhusbacillen, entnahm nach einer oder mehreren Stunden wiederholt Blutproben und untersuchte das so gewonnene Blutserum unter anderem auf seinen Gehalt an Typhuspräzipitinogenen. Ich glaubte durch diese Art der Infektion das Bild des Typhus abdominalis, als einer Bakteriämie, am ehesten nachahmen zu können; Voraussetzung war allerdings, daß ich Typhusbacillen verwendete, welche sich längere Zeit im Tierkörper halten und vermehren konnten; mit anderen Worten also virulente Typhusbacillen, und zwar in genügender Menge.

Daß passiv in den Tierkörper in Gestalt von Kulturfiltraten oder geringen Mengen avirulenter Bacillen eingeführte Typhuspräzipitinogene eher aus dem Körper wieder verschwinden als solche, die erst im Organismus selbst gebildet und wiederholt erneuert werden, ist wohl selbstverständlich.

Danach erscheint es keineswegs überraschend, daß es Russ in seinen entsprechenden Versuchen nicht gelang, Typhuspräzipitinogene aufzufinden, wie er selbst angibt.

Etwas näher muß ich zum Schluß auf die Tabelle IX von Russ eingehen, wo er den von mir angegebenen Tierversuch nachprüft: Ein Kaninchen erhält $^1/_2$ Typhusschrägagarkultur (20 Stunden alt) intravenös injiziert. Nach 10 Stunden wird das Tier entblutet und sein Serum auf den Gehalt an Typhuspräzipitinogenen geprüft. Russ verwendet hierzu, wie übrigens auch zu den oben angeführten Versuchen, ein vom Pferde gewonnenes „hochwertiges“ Typhusimmunserum „Gigant“. Ich hatte mich selbst früher davon überzeugt, daß Typhusimmunsera der verschiedensten Herkunft zur Anstellung der „Präzipitatreaktion“ unter Umständen brauchbar sein können, war jedoch nach mehrfachen Versuchen dazu übergegangen, ein vom Kaninchen durch Injektion von Typhusbouillonfiltraten gewonnenes „Typhusreaktionsserum“ zu verwenden; ich ließ mich hierbei von der Absicht leiten, durch Ausschalten der Bakterienleiber die Reaktionsbreite des Serums einzuengen, d. h. ein möglichst streng für Typhuspräzipitinogene spezifisches Reaktionsserum zu gewinnen, und ich denke in Zukunft darin noch einen Schritt weiter zu gehen, indem ich nur gewisse, durch Fällung mit Ammoniumsulfat aus dem Kulturfiltrat gewonnene Fraktionen zur Injektion verwende.

Aber auch in der Voraussetzung, daß das von Russ gebrauchte Serum „Gigant“ allen Anforderungen genügt, ist es doch mehr als auffallend, wenn wir aus seinem Protokoll, Tabelle IX, ersehen, daß nicht nur dort, wo das „Infektionsserum“ und das Immunserum zusammentreffen, eine „zarte Trübung und feinster flockiger Niederschlag“ auftritt, sondern daß dies auch in allen Kontrollen der Fall ist, wo das „Infektionsserum“ mit dem normalen Pferdeserum oder dem normalen Kaninchenserum zusammenkommt.

Schon in meiner vorläufigen Mitteilung hatte ich besonderen Nachdruck darauf gelegt, daß alle angegebenen Kontrollen ausgeführt werden, und daß sie sämtlich die für den positiven Ausfall der „Präzipitatreaktion" charakteristischen Merkmale: „Trübung", „gleichmäßig verteilte feinste Körnung" und eventuell später „landkartenförmig begrenzten Bodensatz" vermissen lassen.

Danach mußte sich Russ schon sagen, daß die von ihm ganz richtig beobachteten „Trübungen" mit den von mir beschriebenen nicht identisch sein konnten. Russ stellte dann auch ganz folgerichtig als Ursache der von ihm in allen Gläschen, in welchen sein Infektionsserum vorhanden war, beobachteten „Trübungen" etc. die Anwesenheit von Bakterien, und zwar von Typhusbacillen fest. Dies konnte bei meinem Versuch mit vollkommener Sicherheit ausgeschlossen werden, da mein „Infektionsserum" nur dort eine Trübung hervorrief, wo es mit dem entsprechenden „Reaktionsserum" zusammentraf, während die in voller Ueberlegung angestellten Kontrollen mit normalen Kaninchensera bei mir vollkommen klar blieben; außerdem habe ich die bei positivem Ausfall der „Präzipitatreaktion" eintretenden Trübungen wiederholt mikroskopisch und kulturell untersucht: jedesmal konnte ich die Anwesenheit von Bacillen mit aller Sicherheit ausschließen.

Im übrigen hätte Russ diese Fehlerquelle ausschalten können, wenn er meiner Vorschrift entsprechend verfahren wäre und auch seine Sera mit Formalin im Verhältnis von 1 : 5000 oder 1 : 10000 versetzt hätte.

Inzwischen hat Meyer auf der v. Leydenschen Klinik meine Befunde prinzipiell bestätigen und die „Präzipitatreaktion" in der Gesellschaft der Charité-Aerzte demonstrieren können.

Literatur.

Fornet, Die Präzipitatreaktion, ein Beitrag zur Frühdiagnose bei Typhus und anderen Infektionskrankheiten. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 38.)

Russ, Ueber das Schicksal des Bakterienpräzipitinogens im Organismus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 4.)

Meyer, Neuere Methoden der Typhusdiagnostik. Vortrag gehalten am 17. Jan. 1907 in der Gesellschaft der Charité-Aerzte. (Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 11. p. 322.)

Einfluss des Sonnenlichtes auf die Virulenz des Typhusbacillus und des Choleravibrio.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität zu Neapel (Direktor: Prof. De Giaxa).]

Von Dr. **Giovanni Orsi**, Assistenten.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Seit den ersten Beobachtungen, die über die zerstörende Wirkung des Sonnenlichtes auf die Bakterien gemacht worden sind, haben zahlreiche Untersucher ihre Aufmerksamkeit auf diese Erscheinung gerichtet und versucht, sie in allen ihren Erscheinungsweisen aufzuklären, indem sie die verschiedenen Bedingungen studierten, welche noch zur Verstärkung der sterilisierenden Wirkung des Lichtes beitragen.

Unter den zahlreichen Untersuchungen, welche zu diesem Zwecke an Mikroorganismen angestellt sind, fehlten auch diejenigen nicht, welche auf das Studium der Virulenzveränderungen der pathogenen Bakterien unter der Wirkung des Sonnenlichtes gerichtet waren. Diejenigen, die sich damit beschäftigten, konstatierten immer eine Verminderung der Virulenz bei den besonnten Keimen (Arloing, Gaillard, Pansini, Uffelmann, Palermo, Kruse), auch wenn sie nicht darin einer Meinung waren, ob die auf diese Weise abgeschwächten Bakterien gute Vaccine bildeten oder nicht.

In allen Untersuchungen jedoch wurde die Virulenz an denselben besonnten Bakterien bestimmt und, wie es bei der sterilisierenden Wirkung des Lichtes natürlich war, fand man konstant, daß auch die Virulenz der pathogenen Bakterien mehr oder mehr vermindert war. Bei dem Milzbrandbacillus wurden auch noch weitere Versuche an mehreren besonnten Generationen, und zwar an Bakterien und Sporen, angestellt, und man fand so, daß die direkt dem Sonnenlichte ausgesetzten Bakterien eine Verminderung ihrer Virulenz zeigten, während die weiteren von ihnen erhaltenen Kulturen ihre ursprüngliche Virulenz wiedergewannen (Pansini, Buchner).

Bei diesem Stande unserer Kenntnisse nahm ich mir vor, die Virulenzveränderungen der Bakterien zu studieren, welche in Kulturen der Wirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt waren; anstatt jedoch die Virulenz der besonnten Kulturen zu berücksichtigen, wollte ich die Virulenz der späteren Ueberimpfungen auf einen neuen Nährboden untersuchen. Denn da über die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes kein Zweifel besteht, so schienen mir die bisherigen Befunde der verschiedenen Untersucher hinreichend bewiesen; diese hatten nämlich eine Verminderung der Virulenz der direkt besonnten Bakterien festgestellt, welche sich sehr gut durch die numerische Verminderung der dem Lichte ausgesetzten Bakterien erklären läßt, da eben nur ein Teil von ihnen nach der Insolation noch am Leben bleibt.

Uebrigens hat das Verhalten der Virulenz der dem Sonnenlichte ausgesetzten pathogenen Bakterien nur ein relatives Interesse. Vom praktischen Gesichtspunkte aus interessiert es uns viel mehr, wie sich die Bakterienspecies nach der Insolation in ihren verschiedenen Wirkungen und insbesondere in ihren pathogenen Eigenschaften verhält. Man mußte also feststellen, wie diese nach der Einwirkung des Sonnenlichtes modifiziert werden, welchem die Bakterien so oft ausgesetzt sind, und welcher Art die Veränderungen sind, die sie eventuell erleiden können, d. h. ob sie für die folgenden Generationen der Bakterienspecies einen Vorteil oder einen Nachteil bedeuten.

Die Bakterien, welche mir zu diesem Zwecke am geeignetsten erschienen, waren der Typhusbacillus und der Choleravibrio, wobei ich besonders die Art und Weise der epidemiologischen Verbreitung des Typhus und der Cholera, die festgestellten Ansteckungsmittel dieser beiden Infektionskrankheiten und die epidemiologischen Betrachtungen berücksichtigte, welche sich aus den verschiedenen Beobachtungen ergaben.

In unserem Institute beschäftigte sich gleichzeitig Dr. De Francesco mit derselben Frage, indem er am Typhusbacillus experimentierte, den er in Erde dem Lichte aussetzte.

Die Expositionen wurden auf einer weiten Terrasse vorgenommen, die so gelegen war, daß die Sonne ohne irgend ein Hindernis beständig

die ausgesetzten Gegenstände während der ganzen Expositionszeit treffen konnte.

Die exponierten Kulturen waren immer 24 Stunden alt. Anfangs wurden Agarstrichkulturen benutzt, später aber die Versuche auch an Bouillonkulturen ohne großen Unterschied fortgesetzt, wenn man von der Tatsache absieht, daß man bei diesen, um dieselben Wirkungen zu erhalten, die Expositionsdauer etwas länger ausdehnen muß.

In der ersten Periode des Versuches wurden die Röhrchen auf einer starkgeneigten, fast horizontalen Ebene dem Sonnenlichte ausgesetzt und mittels einer geeigneten Vorrichtung wurde ihr unterer Teil in einem Gefäße mit Wasser untergetaucht gehalten, das, um eine konstante Temperatur zu bewahren, beständig bewegt wurde; die Wand, auf welche die Sonnenstrahlen auffielen, ließ man vollständig frei. Später als man die Röhrchen in der Luft der Wirkung der Lichtstrahlen aussetzte, sah man von dieser Vorrichtung ab, ohne daß sich dadurch besondere Veränderungen bemerkbar machten. Bei der ganzen Reihe von Versuchen bemühte man sich, die Röhrchen immer in einer solchen Lage zu halten, daß die Sonnenstrahlen senkrecht oder fast senkrecht auffielen.

Die Dauer der Exposition schwankte zwischen 6 und 10 Stunden, und man sorgte meistens dafür, daß die Mitte der Expositionsdauer zwischen 12 und 1 Uhr lag. Die meteorologische Station des Laboratoriums lieferte mir mit ihren selbstregistrierenden Apparaten die meteorologischen Notizen der Tage, an welchen die Expositionen vorgenommen wurden: der Himmel war immer heiter; die Temperatur im Schatten schwankte zwischen einem Minimum von 23° C und einem Maximum von 31° C; der niedrigste Druck betrug 762 mm, der höchste 765 mm, bei 0° und auf Meereshöhe bezogen; der Feuchtigkeitsgehalt schwankte zwischen 31 und 64 Proz.

Die Versuche wurden während dreier aufeinanderfolgender Sommer in den Monaten Juni, Juli, August und September angestellt. Die Ueberimpfungen von den besonnten Kulturen auf neue Nährböden wurden immer mit reichlichen Materialmengen vorgenommen.

Von jeder Bakterienart stellte man, bevor sie dem Sonnenlichte ausgesetzt wurde, die kleinste tödliche Dosis der Bouillonkulturen fest, und außerdem wurde die Virulenz der Kulturen bestimmt, die von den besonnten abstammten, indem man sie mit anderen Kontrollkulturen verglich, welche in derselben Nährbouillon gewachsen waren und dasselbe Alter besaßen. Die Zahl der in den verschiedenen Jahreszeiten dem Sonnenlichte ausgesetzten Typhuskulturen betrug 6; sie wurden mit den Buchstaben A, B, C, D, E, F bezeichnet. Einige von ihnen waren im Laboratorium schon vorhanden, andere wieder wurden von mir direkt aus Typhuskranken oder aus Typhusleichen isoliert. Der größeren Klarheit halber möchte ich folgendes bemerken: Die Proben A und B stammten aus dem Laboratoriumsbestande, die Probe C aus dem Urin eines Typhuskranken, die Probe D war aus dem Absceß eines Typhusrekonvaleszenten, die Probe E aus der Milz eines an Abdominaltyphus Gestorbenen und die Probe F aus einem Leberabscesse isoliert worden, der sich bei einem Typhuskranken in der Rekonvaleszenz entwickelt hatte.

Die Zahl der Varietäten des Choleravibrio, an denen experimentiert wurde, betrug 2; eine von ihnen, die ziemlich virulent war, war schon seit langer Zeit im Laboratorium aufbewahrt worden, die andere, wenig virulente, stammte aus Deutschland, und zwar war sie in der letzten Epidemie des Jahres 1905 isoliert worden.

Vor den Versuchen wurde bei allen Bakterien mittels geeigneter Medien eine scharfe und eingehende Diagnose gestellt.

Die Ueberimpfungen aus Agar- oder aus Bouillonkulturen, welche dem Sonnenlichte ausgesetzt waren, haben niemals ein negatives Resultat ergeben, auch wenn die Insolation manchmal den ganzen Tag über gedauert hatte. In den besonnten Typhuskulturen konnte man am Ende des Versuches im hängenden Tropfen Keime sehen, die vollkommen unbeweglich waren oder nur eine kaum merkliche Bewegung zeigten. Man konnte jedoch immer Elemente beobachten, die eine ziemlich große Bewegung besaßen; diese steht indessen weit hinter jener zurück, welche die Bakterien derselben Kultur vor ihrer Besonnung zeigten.

Die Kulturen, die aus den besonnten gewonnen waren, zeigen keine besonderen Eigenschaften; der Mikroorganismus entwickelt sich in den verschiedenen Nährmedien mit allen seinen Eigenschaften weiter, jedoch entwickeln sich die Kulturen in flüssigen Nährböden besser, als die auf feste Nährböden verimpften.

Stellt man sich aus den Typhusbouillonkulturen, welche man aus den dem Sonnenlichte exponierten erhalten hat, hängende Tropfen her, so zieht sofort der Umstand die Aufmerksamkeit des Beobachters auf sich, daß man einen Bacillus vor sich hat, der gewöhnlich viel länger als der ursprüngliche ist, von dem die Kultur herrührt. Außerdem beobachtet man zahlreiche Fadenformen, von denen einige segmentiert sind und andere wieder aus zahlreichen zu Ketten angeordneten Elementen bestehen, was auf eine üppige Proliferation schließen läßt.

Ich darf nicht verhehlen, daß die Beobachtung der sehr langen falschen Fäden in mir anfangs die Vermutung entstehen ließ, daß ich es mit einer Verunreinigung der Kultur zu tun hätte; durch aufeinanderfolgende Ueberimpfungen aber und durch das beständige Wiederauftreten der Erscheinung konnte ich mich von der Identität des Bacillus überzeugen.

Eine Eigenschaft der Typhuskulturen, die man aus den dem Sonnenlichte ausgesetzten Kulturen erhalten hatte, ist die Bewegungsschnelligkeit der einzelnen Bakterien. In diesen Kulturen besitzen alle Elemente einschließlich der Fäden eine sehr rasche Ortsbewegung, die viel bedeutender ist, als bei den Elementen der ursprünglichen Kulturprobe.

Bei dem Choleravibrio läßt sich auch eine größere Beweglichkeit feststellen, jedoch ist in diesem Falle eine so starke Bewegung nicht vorhanden und nur bei einigen Elementen läßt sie sich gut erkennen.

Bei den ersten Versuchen, die zur Bestimmung der Virulenz der von besonnten Kulturen abstammenden Bouillonkulturen hinsichtlich der Kontrolle angestellt wurden, konnte ich eine Erscheinung beobachten, die mir erwähnenswert erscheint.

Durch die erste Versuchsreihe überzeugte ich mich, daß die Meerschweinchen, welche mit den Typhusbouillonkulturen geimpft waren, die von den der Sonnenlichtwirkung ausgesetzten Kulturen abstammten, durch viel geringere Dosen getötet wurden, als bei anderen Meerschweinchen erforderlich waren, die unter gleichen Bedingungen mit gewöhnlichen Kulturen geimpft worden waren. Der Versuch, der mehrmals immer an Meerschweinchen und zwar mit einer großen Reihe von Kontrollversuchen wiederholt worden war, gab immer dieselben Resultate, d. h. es zeigte sich gegenüber den Kontrollversuchen immer eine Steigerung der Virulenz bei den folgenden Generationen der dem Sonnenlichte ausgesetzten Bakterien. Von der Richtigkeit der Beobachtung

überzeugt, wollte ich mich vor der Fortsetzung meiner Versuche vergewissern, ob sich wirklich an den in Kultur dem Sonnenlichte ausgesetzten Bakterien die schädliche Wirkung des Lichtes bemerkbar macht und ob die festgestellte Steigerung der Virulenz der Keime nicht etwa dadurch bedingt sein könnte, daß in den von den besonnten Mikroorganismen abstammenden Kulturen eine üppigere Entwickelung stattgefunden hätte und sie daher einfach auf numerische Verhältnisse zurückzuführen wäre. Um die erste Möglichkeit auszuschalten, entnahm ich eine Oese Bakterienmaterial einer Agarkultur, die ungefähr 8 Stunden dem Sonnenlichte ausgesetzt war, und verimpfte sie in Petrische Schalen; diese wurden dann einige Tage hintereinander beobachtet, nachdem man sie in den zur Entwickelung geeigneten Bedingungen gehalten hatte. Aus dem so reichlich verimpften Materiale entwickelten sich nur wenige Dutzende von Kolonieen; es ergab sich hieraus also unbestreitbar, daß das Sonnenlicht auf die Bakterien, auch wenn sie ihm in Kultur ausgesetzt werden, tatsächlich eine schädliche Wirkung ausübt, und zwar derart, daß nach ungefähr 8-stündiger Einwirkung nur wenige Elemente noch am Leben und entwickelungsfähig sind.

Was ferner die Anzahl der Keime anbelangt, die in den aus dem besonnten Bakterienmaterial oder in den aus der ursprünglichen Probe herrührenden Kulturen enthalten sind, so habe ich mit Hilfe der Kulturen in den Petrischen Schalen, die ich aus gleichen Mengen der betreffenden Kulturen hergestellt habe, gezeigt, daß die Anzahl der Keime fast konstant gleich ist, und daß nur leichte numerische Schwankungen bald zu Gunsten der einen, bald zu Gunsten der anderen vorkommen, Schwankungen, die durchaus nicht die erhebliche Steigerung der Virulenz der von besonntem Bakterienmaterial herrührenden Kulturen erklären können.

Ist so jeder Zweifel an der konstatierten Tatsache beseitigt und habe ich mich andererseits durch Versuche vergewissert, daß die direkt besonnten Kulturen einen Teil ihrer pathogenen Eigenschaften, und zwar manchmal in beträchtlichem Maße, verlieren, so habe ich mich überzeugt, daß es sich um eine Eigenschaft handeln muß, die erst von den späteren Kulturen erworben worden ist; ich habe deshalb die Versuche in den folgenden Jahreszeiten wiederholt und immer bei allen Typhusbacillenproben, mit denen ich experimentiert habe, eine beträchtliche Steigerung der Virulenz erhalten.

Ich stelle in der folgenden Tabelle die kleinsten tödlichen Dosen (D. l. m.) der Bouillonkulturen einer jeden Probe vor und nach der Einwirkung des Sonnenlichtes zusammen.

Typhusvarietät	A	B	C	D	E	F
	%	%	%	%	%	%
D. l. m. der Bouillonkulturen in Kubikcentimetern	0,90	0,50	0,80	0,50	1,00	0,40
D. l. m. der von besonnten Kulturen abstammenden Bouillonkulturen in Kubikcentimetern	0,50	0,20	0,40	0,25	0,80	0,10

Wie sich leicht ersehen läßt, ist die Steigerung der Virulenz, welche die einzelnen Proben nach der Belichtung erworben haben, nicht gleichmäßig und, wenn man bedenkt, daß die Expositionen meistens bei zwei oder drei Proben gleichzeitig vorgenommen sind, so kann man daraus schließen, daß die Lichtwirkung sich nicht an den Varietäten desselben

Bakteriums in gleicher Weise äußert, denn während sie sich bei dem einen in so beträchtlicher Weise bemerkbar macht, daß es viermal virulenter als die ursprüngliche Kultur wird, zeigt das andere nur eine Verminderung um ein Fünftel im Vergleiche zu der ursprünglichen kleinsten tödlichen Dosis.

Aus den angeführten Ziffern geht hervor, daß die Verschiedenheit im Verhalten im Zusammenhange mit Differenzen in der ursprünglichen Virulenz der der Sonnenlichtwirkung ausgesetzten Keime steht, und zwar so, daß, je virulenter das Bakterium ist, um so mehr sich die Lichtwirkung bemerkbar macht und um so größer die Steigerung der Virulenz der folgenden davon abstammenden Kulturen ist.

Um zu beweisen, daß die Steigerung der Virulenz des Keimes wirklich von der ursprünglichen Virulenz des exponierten Bakteriums abhängt, wurde die Wirkung des Sonnenlichtes an zwei Kulturen derselben Bakterienprobe, F, untersucht, von denen die eine bei 0,40 Proz. ccm pathogen war und die andere von Kulturen herrührte, die in dem Grade abgeschwächt waren, daß man zur Tötung von Meerschweinchen 1,50 Proz. ccm einer solchen Bouillonkultur verimpfen mußte.

Von diesen Kulturen, die 8 Stunden lang dem Sonnenlichte ausgesetzt worden waren, nahm man Verimpfungen in Nährbouillon vor und stellte dann den Virulenzgrad fest. Während nun die von den virulenteren Mikroorganismen abstammende Kultur ein Meerschweinchen in einer Menge von 0,10 Proz. tötete, zeigte sich bei der anderen sofort eine ganz geringe Steigerung der Virulenz, da 1,30 Proz. ccm erforderlich waren, um in gleicher Weise den Tod des Meerschweinchens herbeizuführen. Es zeigt sich also, daß die Steigerung der Virulenz der von belichtetem Bakterienmaterial abstammenden Kulturen in der Tat von der ursprünglichen Virulenz des besonnten Keimes abhängt, und daß sie für die an und für sich schon virulenteren Bakterienvarietäten größer und für die schon abgeschwächten geringer ist.

Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß die größere infolge der Sonnenlichtwirkung erworbene Virulenz sich nicht bei den späteren Verimpfungen verliert, sondern als eine neue Eigenschaft der Bakterienspecies bestehen bleibt; sie schwächt sich erst nach einer gewissen Zeit ab, so wie es auch bei den gewöhnlichen Typhusbacillenkulturen der Fall ist.

Mir scheint ferner die Feststellung interessant, bis zu welchem Grade die Virulenzvermehrung des Typhusbacillus unter der Einwirkung des Sonnenlichtes sich steigern kann. Zu diesem Zwecke bin ich in der oben beschriebenen Weise vorgegangen, indem ich nur die Exposition und die successiven Ueberimpfungen 4 oder 5 Tage hintereinander wiederholte und immer mittels der entsprechenden Kontrolle die kleinste tödliche Dosis jeder einzelnen Ueberimpfung bestimmte.

Mittels der in dieser Weise ausgeführten Versuche habe ich mich überzeugen können, daß man die stärkste Steigerung der Virulenz nur nach der ersten Insolation erhält, und daß dann nach weiteren zwei oder drei aufeinanderfolgenden Expositionen nur eine leichte Modifikation eintritt, immer jedoch bei einer Vermehrung der Virulenz, bis daß das Bakterium sich fast gar nicht mehr beeinflussen läßt, wobei jedoch immer das Maximum der Virulenz bestehen bleibt, das bei den successiven Insolationen erreicht worden ist.

Dieselben Versuche, die am Typhusbacillus ausgeführt worden sind, haben wir mit dem Choleravibrio wiederholt; auch bei ihm untersuchte

man die Virulenz der Kulturen, die von anderen der Sonnenlichtwirkung ausgesetzten Kulturen abstammten. In diesem Falle erhielt man aber keine so deutliche Vermehrung der Virulenz, wie es beim Typhusbacillus der Fall gewesen war. Festgestellt konnte nur werden, daß der Bacillus immer seine pathogene Eigenschaft bewahrte und die Bakterienspecies durch die Exposition nicht abgeschwächt wurde. In einem Falle starben die Meerschweinchen, die mit den von dem besonnten Material abstammenden Kulturen geimpft worden waren, konstant 3—4 Stunden eher als die Kontrollmeerschweinchen, ein Resultat, das von dem beim Typhusbacillus erhaltenen ganz verschieden ist.

Während sich andererseits beim Typhusbacillus von einem ganzen besonnten Agarkulturbelage bei Ueberimpfungen auf feste Nährböden nur wenige Dutzende von Kolonieen entwickelten, waren beim Choleravibrio unter gleichen Bedingungen die entwickelten Kolonieen sehr zahlreich und absolut unzählbar; dieser Umstand legt einem den Gedanken nahe, daß das Verhalten der beiden Bakterienarten hinsichtlich der Sonnenlichtwirkung eine erhebliche Verschiedenheit zeigt.

Diese Verschiedenheit kann sich bei zwei Gelegenheiten offenbaren: nämlich erstens bei der Beobachtung im hängenden Tropfen an den mittels successiver Ueberimpfungen erhaltenen Kulturen, wo sich eine deutliche Vermehrung der Beweglichkeit und der morphologischen Modifikationen des Typhusbacillus zeigt; der Choleravibrio zeigt in diesem Falle nur Elemente, die beweglicher als die ursprünglichen Mikroorganismen sind, während die Masse der Bakterien ihre ursprünglichen Eigenschaften behält; oder diese Verschiedenheit läßt sich an dem Verhalten der Virulenz der Bakterienspecies erkennen, die beim Typhusbacillus beträchtlich vermehrt ist, während sie beim Choleravibrio keine Veränderung oder nur eine leichte Steigerung zeigt, oder sie äußert sich in der Anzahl von Bakterien, die nach ungefähr 8-stündiger Insolation in Kultur noch am Leben und vermehrungsfähig sind, eine Zahl, die für den Typhusbacillus sehr gering, für den Choleravibrio dagegen sehr erheblich ist.

Worauf können wir nun die Modifikationen der Virulenz, welche die Bakterien nach der Insolation erlitten haben, und die Verschiedenheit des Verhaltens der beiden untersuchten Species zurückführen?

Sind die beobachteten Modifikationen der direkten Einwirkung des Sonnenlichtes zuzuschreiben oder müssen sie auf andere Weise erklärt werden?

Zieht man in Betracht, daß in den besonnten Kulturen die Keime in der Regel schrittweise ihre Beweglichkeit einbüßen, und bedenkt man ferner, daß nach wenigen Stunden der Insolation nur einige von ihnen noch am Leben bleiben, während der größte Teil nicht mehr vermehrungsfähig ist, so bleibt meiner Meinung nach sicherlich kein Zweifel darüber bestehen, daß die vom Sonnenlichte auf die Bakterienzellen ausgeübte Wirkung den Bakterien selbst schädlich ist, was auf den ersten Blick nicht mit dem Resultate übereinstimmen könnte, das man bei der Dosierung der Virulenz der von successiven Ueberimpfungen abstammenden Kulturen erhalten hat.

Wenn andererseits das Sonnenlicht eine direkte Einwirkung auf die Typhusbacillen äußerte, indem es ihre Virulenz vermehrte, so müßte sich diese Wirkung nicht nur nach der ersten Insolation, sondern auch in gleicher Weise nach den darauffolgenden Insolationen äußern; dies ist aber nicht der Fall, denn ein Maximum der Virulenzsteigerung ist nach

der ersten direkten Besonnung aufgetreten, während sich nach den späteren Expositionen nur kleine Schwankungen bemerkbar machten, die man allmählich ganz unberücksichtigt lassen konnte.

Aus diesen Gründen erscheint es also wahrscheinlich, daß die Virulenzsteigerungen der Bakterienspecies nicht in direkter Beziehung zu der Wirkung des Sonnenlichtes stehen, ausgenommen man wollte dann annehmen, daß das besonnte Bakterium durch das Licht bis zu einem gewissen Grade beeinflußt werden könnte, der nach der ersten Insolation erreicht ist, und daß es sich fernerhin in der Regel nicht mehr so empfindlich der Lichtwirkung gegenüber verhält, wie nach der ersten Exposition.

Wenn aber das Sonnenlicht nicht eine direkte Wirkung auf die Virulenz der Keime ausübt, dann wollen wir ein wenig bei der Betrachtung verweilen, ob es einen indirekten Einfluß haben kann, der uns eine Erklärung für die experimentell hervorgerufene Erscheinung geben könnte. Wenn das Sonnenlicht eine schädliche Wirkung auf die Bakterien ausübt, so braucht dadurch nicht ihre Virulenz beeinträchtigt zu werden. In der Tat ist es auch bei den successiven Kulturen des besonnten Milzbrandbacillus gezeigt worden, daß derselbe, solange er lebt, seine pathogenen Eigenschaften behält; also hat das Licht die Fähigkeit, die Keime zu töten und auf diese Weise die Virulenz der direkt seiner Wirkung ausgesetzten Kulturen abzuschwächen, andererseits ist es aber nicht imstande, die pathogenen Eigenschaften selbst zu modifizieren; bleiben daher einige von den Bakterien am Leben, so behalten sie auch unverändert ihre Eigenschaften bei. Dasselbe geschieht beim Typhusbacillus; erzielt man aber in diesem Falle mit der Insolation den Tod einer beträchtlichen Anzahl von Keimen, so kann man hierdurch indirekt eine wahre Selektion der Bakterienspecies erreichen, und zwar in der Weise, daß von einer Kultur nach der Insolation nur die besten Elemente am Leben bleiben, d. h. jene, die unter den ungünstigen Bedingungen der äußeren Umgebung am widerstandsfähigsten sind und wahrscheinlich auch die stärkste pathogene Wirkung besitzen.

Zur Bestätigung dieser Tatsachen wollte ich untersuchen, wie unter der Wirkung des Sonnenlichtes die Zerstörung der in destilliertem Wasser suspendierten Typhusbacillen vor sich ginge, je nachdem sie mehr oder weniger virulent wären.

Nachdem ich daher mittels geeigneter Medien von demselben Bakterium zwei Kulturen erhalten hatte, von denen die eine gesteigerte, die andere eine abgeschwächte Virulenz besaß, stellte ich mir daraus in zwei Röhrchen mit sterilem destillierten Wasser eine leicht opalfarbene Bakterienemulsion her; nachdem nun in beiden Emulsionen die in einer gleichen Flüssigkeitsmenge suspendierten Keime mittels der Anzahl der Kolonieen, die sich in den entsprechenden Petrischen Schalen entwickelt hatten, gezählt worden waren, setzte ich die Emulsionen dem Sonnenlichte aus und entnahm in sechs aufeinanderfolgenden Stunden stündlich aus beiden Röhrchen die gleiche Materialmenge, um die daraus entstandenen Kolonieen zu zählen.

Bei diesem Verfahren stellte ich fest, daß von den ersten Stunden der Exposition an die Kolonieen aus der mit der abgeschwächten Kultur hergestellten Emulsion schnell und progressiv an Zahl abnahmen, während die anderen eine weniger ausgesprochene progressive Verminderung zeigten. Diese Verschiedenheit im Verhalten erreichte dann ein Maximum am Ende der Exposition, denn aus 1 ccm der ersten entwickelten sich

nur wenige Kolonieen, während diejenigen, die sich aus der gleichen Menge der anderen entwickelt hatten, im Vergleiche zu den ersteren noch ziemlich zahlreich waren, wenn sie auch ihrer ursprünglichen Anzahl gegenüber eine beträchtliche Abnahme aufwiesen. Aus dieser Tatsache könnte man also schließen, daß das Sonnenlicht stärker auf die weniger virulenten Formen einwirkt, und man könnte auch zu der Ansicht kommen, daß der schädliche Einfluß, der vom Sonnenlichte auf die Elemente einer Kultur ausgeübt wird, im umgekehrten Verhältnisse zu ihrer Virulenz steht.

Ist nun eine Insolation imstande, eine Wirkung auf eine Kultur zu äußern, ist sie aber andererseits zur Vernichtung aller in der Kultur enthaltener Keime nicht ausreichend, und läßt sich ferner eine vollkommene Sterilisierung nur schwer erzielen, so ist es, wenn man aus der besonnten Kultur die überlebenden Keime in eine neue für ihre Entwickelung geeignete Umgebung, d. h. unter die günstigsten Lebensbedingungen bringt, ganz natürlich, daß die noch lebenden Keime, die durch die Besonnung in keiner Weise ungünstig beeinflußt sind, sich in üppiger Weise vermehren und so eine Kultur entstehen lassen, deren Elemente denselben Typus haben, wie die in der besonnten Kultur am Leben gebliebenen, und daher widerstandsfähiger und aktiver sind.

Die Erhöhung der Virulenz, welche durch die Insolation erreicht ist, ließe sich so auf die indirekte Wirkung des schädlichen Einflusses des Sonnenlichtes auf die Bakterien und auf die Selektion von Arten zurückführen, die dadurch stattgefunden hat. In ähnlicher Weise könnte man sich erklären, weshalb diese Erscheinung in unserem Klima nicht mit derselben Intensität beim Choleravibrio auftritt. In diesem Falle würden wir uns einem Bakterium gegenüber befinden, welches gegen die Wirkung des Sonnenlichtes resistenter ist und auf dieselbe in ganz anderer Weise reagiert. Die Selektion, die bei den dem Lichte ausgesetzten Typhuskulturen stattfindet, hat jedoch eine bestimmte Grenze; nach einer oder höchstens zwei Insolationen hintereinander werden die schwachen Elemente vollkommen eliminiert, und daher kommt es auch, daß die darauffolgenden Kulturen konstant das Virulenzmaximum behalten, welches sie, ohne weitere Modifikationen zu erleiden, erreicht haben.

Man hätte so eine für das Fortbestehen der Species sehr wichtige Erscheinung: Die in Kultur, d. h. unter günstigen Lebensbedingungen besonnten Bakterien bieten der schädigenden Wirkung des Sonnenlichtes sicherlich einen größeren Widerstand, als wenn sie von der deletären Wirkung des Lichtes unter Bedingungen getroffen werden, die für ihre Existenz ungünstig sind. Dies genügt aber nicht, denn in ein und derselben Kultur zeigen die einzelnen Elemente noch einen verschiedenen Grad von Resistenz, wobei schließlich diejenigen am Leben bleiben, die am lebenskräftigsten und am geeignetsten sind, die Species mit allen ihren Eigenschaften fortzupflanzen. Auf diese Weise wird der Schaden des einzelnen Individuums ein großer Nutzen für die Species, die so aus dem Kampfe gegen die sie schädigenden Agentien besser gerüstet und zu neuem Leben wieder gekräftigt hervorgeht.

So entfaltet die äußere Umgebung ihre Wirkung auf die Vitalität und die Virulenz der Bakterienspecies, indem sie ihre pathogenen Eigenschaften bis zum höchstmöglichen Grade mit Hilfe derselben Faktoren erhält, welche sonst die Existenz der einzelnen Bakterien bedrohen.

Folgendes sind, kurz gefaßt, die Schlußfolgerungen, die man nach meiner Ansicht aus der vorliegenden Arbeit ziehen kann:

1) Das Sonnenlicht übt auf die Bakterien eine schädigende Wirkung aus, auch wenn diese in Form einer Kultur seiner Wirkung ausgesetzt werden; dennoch reicht sie nicht immer zu ihrer völligen Vernichtung aus.

2) Bei einer Exposition von durchschnittlich 8—10-stündiger Dauer bleiben in den besonnten Kulturen nur wenige Typhusbacillen noch am Leben und vermehrungsfähig; die Choleravibrionen bleiben in größerer Anzahl erhalten.

3) Das Sonnenlicht modifiziert die morphologischen Eigenschaften des Typhusbacillus in der Weise, daß die einzelnen Elemente der von besonntem Bakterienmaterial herrührenden Kulturen konstant und deutlich länger als die der ursprünglichen Kulturen sind und die fadenförmigen Formen zahlreicher werden. Die Beweglichkeit der Bakterien ist immer merklich vermehrt.

4) Die Virulenz der Typhus- und Cholerakeime wird durch das Sonnenlicht nicht modifiziert, solange dieselben noch am Leben sind; die Abnahme der Virulenz, die man in den direkt besonnten Kulturen beobachtet, ist auf die beträchtliche numerische Abnahme der in ihnen enthaltenen Bakterien zurückzuführen.

5) Die Bouillonkulturen des Typhusbacillus, die von besonntem Material abstammen, sind viel virulenter, als die von der ursprünglichen Probe herrührenden; die folgenden Ueberimpfungen behalten ihre neuen Eigenschaften.

6) Die infolge der Insolation eingetretene Steigerung der Virulenz ist verschieden und steht in direkter Beziehung zur Virulenz des exponierten Keimes.

Wahrscheinlich muß man die Erscheinung auf das Ueberleben der virulenteren Formen einer Kultur zurückführen, und man muß annehmen, daß die schädigende Wirkung des Sonnenlichtes im umgekehrten Verhältnisse zu der ursprünglichen Virulenz des Keimes steht.

Literatur.

Arloing, Compt. rend. T. CI. 1885. Arch. de Physiol. norm. et path. T. VII. 1886. Compt. rend. T. CIV. 1886. Annal. de l'Institut Pasteur. 1887.
Buchner, Centralbl. f. Bakter. etc. Bd. XI—XII. 1892. Arch. Hyg. 1893.
Dieudonné, Arb. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. IX. 1894.
Di Francesco, Revue d'hyg. 1894.
Downes, Proc. Royal Soc. Vol. XL. London 1886.
Downes u. Blunt, Proc. Royal Soc. Vol. XXVI. London 1877.
Drygalski, Centralbl. f. Bakter. etc. Bd. XXVII. 1900.
Duclaux, Annal. de l'Institut Pasteur. 1887—1892.
Erstens, Compt. rend. T. C. 1885.
Gaillard, Lyon 1888.
Gamba, Rivista clin. e terap. Jg. 16.
Geisler, Centralbl. f. Bakter. etc. Bd. XI. 1892.
Janowski, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. 1890.
Jamilson, Proc. Royal Soc. Vol. XX. Victoria.
Jousset, Sem. méd. 1900.
Kedjior, Arch. Hyg. Bd. XXXVI. 1899.
Kotliar, Annal. de l'Institut Pasteur. 1893.
Kruse, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. XIX. 1895.
Ledoux u. Lebard, Arch. de méd. expér. et d'anat. path. 1892.
Mignew, Arch. Hyg. Bd. XXV.
Momont, Annal. de l'Institut Pasteur. 1892.
Nocard, Rec. de méd. vét. 1884.
Palermo, Annali d'igiene speriment. 1893.
Pansini, Rivista d'igiene. 1889.
Procaccini, Annal. d'igiene speriment. 1893.

Raum, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. VI. 1889.
Roux, Annal. de l'Institut Pasteur. T. I. 1887.
Soyka, Zeitschr. f. Biol. Bd. XIV. 1878.
Strauss, Soc. Biolog. 1886.
Zyndall, Proc. Royal Soc. London 1878.
Uffelmann, Berliner klin. Wochenschr. 1892.
Ward, Proc. Royal Soc. London 1893.

Wert der Blutuntersuchung für die Typhusdiagnose[1]).

[Aus dem hygien. Institut zu Kiel (Geh.-Rat B. Fischer).]

Von Dr. **Reiner Müller** und Dr. **Heinrich Gräf.**

Mit 1 Figur.

Im Herbst 1905 haben wir ein einfaches Verfahren gefunden, um Typhuserreger aus eingesandten Blutproben zu züchten, was bis dahin in praktisch durchführbarer Weise nicht gelungen war. Hierüber berichtete am 18. Dez. 1905 im Physiologischen Verein zu Kiel Herr Geheimrat Fischer; am 7. Jan. 1906 erschien unsere erste Arbeit (18); am 8. Juni 1906 konnte auf der 1. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie (19) in Berlin berichtet werden, daß sich unser Verfahren auch weiterhin bewährt hatte.

Die nachfolgenden Untersuchungen, bei denen wir uns der vielfachen Förderung unseres hochverehrten Chefs, Herrn Geheimrat Fischer, erfreuten, geben hierfür die genaueren Belege; besonders aber sollen sie zeigen, was die bei unserem Verfahren von selbst gegebene Verbindung der Blutkuchenaussaat mit der Agglutinationsprüfung des Krankenserums im Betriebe eines bakteriologischen Untersuchungsamtes leistet.

I. Die Züchtung der Erreger aus den eingesandten Blutproben.

Wir hatten zuerst gefunden, daß durch Hirudin ungerinnbar gemachtes Blut von Typhuskranken noch nach mehreren Tagen die Züchtung der Erreger ermöglicht, und daß das klare Blutplasma derselben Probe die Agglutinationsprüfung nach Widal gestattet.

Dieses Verfahren wurde aber übertroffen durch die weitere Beobachtung, daß auch die im Blutkuchen des geronnenen Blutes eingeschlossenen Typhusbakterien am Leben bleiben.

Die Untersuchung gestaltet sich etwa folgendermaßen: Der Arzt benutzt zur Entnahme in den Apotheken vorrätig gehaltene sterile Blutröhrchen aus starkem Glase von 12 mm lichter Weite, $6^1/_2$ cm Höhe und etwa 6 ccm Inhalt[2]). Die Entnahme des Blutes erfolgt in den meisten Fällen durch Einstich in das Ohrläppchen.

---

1) Nach einem am 4. Febr. 1906 im Kieler physiologischen Verein von Müller gehaltenen Vortrage.

2) Diese Glasröhrchen werden, wie alle Entnahmegefäße des Untersuchungsamtes, seit etwa 1 Jahre in Holzhülsen versandt, die durch Eintauchen in geschmolzenes Paraffin wasserdicht und unbeschreibbar gemacht sind. Vor dem Paraffinieren werden die Hülsen mit dem Institutsstempel und dem Vermerk „Vorsicht! Infektiöses Material" versehen. Durch Abwaschen mit Sublimatwattebäuschchen werden die Hülsen nach dem Gebrauche wie neu. Der Verschluß erfolgt nicht mehr durch Holz- oder Blechdeckel, sondern durch gut schließende Korken.

Tabelle 1

enthält die bakteriologisch nachgewiesenen **Typhusfälle** (alle bei einem Falle gemachten Untersuchungen sind unter derselben Buchnummer angeführt; 00 = keimfrei, bei Stuhl = desinfiziert; die Agglutinationszahlen verstehen sich nach 2-stündiger Beobachtung, Krankheitstag 0 = nicht krank, — = nicht bekannt oder nicht gemacht. Blutmenge = ccm).

Buchnummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für				Fieber	Blutmenge	Kolonienzahl	Stuhl	Urin
			Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm					
1. Dez. 05											
1785	18 w.	10	100	—	500	—	40,0	3,0	64	—	—
	18 w.	14	—	—	—	—	—	—	—	0	0
	18 w.	17	200	—	200	—	39,5	1,0	2	—	—
	18 w.	44	200	—	50	—	0	0,1	0	—	—
1848	— m.	14	200	—	50	—	39,3	0,75	3	+	00
1856	— m.	21	200	—	0	—	39,8	1,0	5	0	+
1859	— m.	21	200	—	0	—	39,5	1,5	154	—	—
1883	18 m.	16	1000	—	50	—	40,3	4,0	165	—	—
	18 m.	78	—	—	—	—	0	—	—	0	—
1897	16 m.	17	—	—	—	—	—	—	—	+	—
1917	— m.	15	2000	—	30	—	40,0	1,0	8000	0	0
1935	64 w.	2	50	—	100	—	37,5	3,0	0	—	0
	64 w.	5	—	—	—	—	—	—	—	+	—
1982	25 w.	15	50	—	0	—	?	0,1	0	+	00
	25 w.	38	50	—	0	—	0	0,25	—	0	+
	25 w.	68	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2001	24 m.	6	200	—	30	—	?	0,75	0	0*	00
	24 m.	11	200	—	30	—	37,5	0,2	—	0	00
2018	15 m.	12	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2061	40 m.	21	200	—	0	—	?	1,0	0	+	+
2137	59 w.	0	0	—	0	—	0	?	—	0	+
	59 w.	+77	30	—	0	—	0	?	—	+	0
	59 w.	+17	—	—	—	—	0	—	—	0	0
2090	16 m.	28	1000	—	200	—	?	1,0	0	0	0
2098	29 m.	6	1000	—	100	—	?	1,0	2	—	—
2099	— m.	10	1000	—	100	—	?	1,0	320	—	—
2105	8 w.	24	100	—	30	—	?	0,1	0	—	—
2106	18 w.	22	100	—	0	—	?	0,2	200	—	—
2140	— m.	X	0	—	100	—	?	0,5	15	—	—
	— m.	+77	200	—	0	—	39,2	1,25	8	0	0
2150	— m.	18	500	—	0	—	?	0,5	0	+	—
	— m.	31	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2166	26 w.	20	200	—	0	—	38,6	1,25	48	—	—
2169	11 m.	10	2000	—	50	—	?	1,0	16	+	00
	11 m.	54	—	—	—	—	—	—	—	0	—
2227	26 m.	13	200	—	0	—	?	1,25	50	0	0
2301	13 w.	12	200	—	50	—	?	0,4	0	0	0
2308	46 m.	21	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	46 m.	39	—	—	—	—	—	—	—	0	00
2352	17 m.	X	2000	—	200	—	40,5	1,8	1	0	00
2400	— m.	X	50	—	0	—	?	0,2	0	—	—
2426	— m.	12	200	—	100	—	?	1,0	0	—	—
2435	33 m.	9	200	—	0	—	?	3,0	117	—	00
2611	— m.	10	—	—	—	—	—	—	—	0	00
	— m.	15	200	—	50	—	38,0	1,0	0	+	—
	— m.	28	—	—	—	—	—	—	—	0	—
	— m.	96	500	—	30	—	?	1,1	1	0	0
2631	11 w.	25	—	—	—	—	—	—	—	+	0
	11 w.	46	—	—	—	—	—	—	—	0	—
2730	13 w.	X	50	—	50	—	?	0,2	0	0	0
2745	64 w.	21	—	—	—	—	—	—	—	0	+

Buchnummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm	Fieber	Blutmenge	Kolonieenzahl	Stuhl	Urin
2787	20 m.	10	200	—	50	—	?	0,3	0	0	0
2802	21 m.	14	200	—	100	—	?	4,5	27	0	0
2811	33 w.	X	200	—	30	—	39,0	1,0	15	+	0
2823	4 m.	13	0	—	0	—	?	0,3	0	0	0
	4 m.	22	—	—	—	—	40,2	—	—	+	—
2874	2 w.	X	50	—	30	—	?	0,05	0	—	—
1. April 06											
23	41 w.	X	—	—	—	—	?	—	—	+	—
50	9 m.	4	100	—	200	—	40,3	0,3	0	0	0
	9 m.	9	—	—	—	—	—	—	—	0	—
76	— w.	7	—	—	—	—	—	—	—	+	—
105	24 m.	7	200	—	0	—	38,7	1,0	0	+	00
143	— m.	9	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	— m.	17	—	—	—	—	—	—	—	0	—
	— m.	39	—	—	—	—	—	—	—	0	—
144	8 m.	6	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	8 m.	36	—	—	—	—	0	—	—	0	—
145	13 m.	4	—	—	—	—	—	—	—	0	—
	13 m.	15	—	—	—	—	—	—	—	0	—
	13 m.	31	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	13 m.	40	—	—	—	—	—	—	—	0	—
	13 m.	47	—	—	—	—	—	—	—	0	—
146	6 m.	6	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	6 m.	44	—	—	—	—	—	—	—	0	—
147	35 w.	6	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	35 w.	46	—	—	—	—	—	—	—	0	—
159	18 m.	X	1000	—	30	—	?	1,25	0	0	00
206	20 m.	13	—	—	—	—	40,6	—	—	+	—
221	30 w.	X	2500	—	0	—	0 ?	0,6	0	—	00
227	63 w.	20	0	—	0	—	39,7	0,3	0	+	00
	63 w.	66	—	—	—	—	0	—	—	0	00
249	31 m.	28	200	—	100	—	38,2	0,4	0	—	00
275	35 m.	14	2000	—	200	—	39,0	2,2	167	—	00
281	— w.	00	200	—	0	—	0	0,3	0	—	—
290	64 m.	X	—	—	—	—	—	—	—	+	—
300	57 w.	12	0	—	0	—	39,4	1,0	0	0	0
	57 w.	17	1000	—	200	—	38,0	?	0	—	—
355	19 m.	X	—	200	200	—	?	0,4	0	—	—
358	32 m.	X	—	200	200	—	?	0,4	0	0	00
	32 m.	+24	—	0	0	—	0 ?	2,2	0	0	00
361	19 w.	22	—	1000	500	—	?	1,4	6	0	0
	19 w.	31	—	—	—	—	—	—	—	+	0
365	19 w.	28	—	1000	500	—	?	1,1	0	0	0
	19 w.	33	—	—	—	—	—	—	—	+	0
	19 w.	45	—	—	—	—	—	—	—	0	0
368	25 m.	X	—	200	200	—	?	0,35	0	0	0
376	39 m.	21	—	200	200	—	?	0,4	0	0	0
393	30 w.	9	—	50	30	—	?	0,1	0	0	0
420	4 m.	28	—	200	0	—	41,0	0,75	2	0	00
	4 m.	42	—	200	0	—	0	0,5	0	—	—
427	7 w.	8	—	100	50	—	40,2	0,15	0	0	0
	7 w.	33	—	—	—	—	37,5	—	—	0	0
436	13 m.	5	—	1000	500	—	38,5	4,0	0	0	0
455	20 w.	7	200	0	0	0	40,2	30,0	12	0	—
489	24 w.	19	—	200	100	—	38,3	0,6	0	0	0
	24 w.	48	200	200	0	—	38,2	0,6	0	0	0
501	— m.	42	—	30	200	—	39,9	0,8	0	—	—

Buch-nummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm	Fieber	Blutmenge	Kolonieenzahl	Stuhl	Urin
501	— m.	44	—	50	200	—	—	0,6	0	0	—
506	25 m.	9	—	200	100	—	39,8	1,3	150	—	—
516	4 m.	5	—	200	50	—	39,8	0,75	0	0	0
524	23 w.	150	—	50	0	—	37,5	0,9	0	—	—
528	13 m.	X	—	200	0	—	?	5,0	0	—	—
534	6½ w.	10	—	200	30	—	?	0,4	0	0	0
560	11 m.	19	—	1000	200	—	38,5	1,5	0	0	00
570	14 w.	17	—	2000	200	—	40,0	1,4	0	0	—
586	32 m.	5	—	200	0	—	38,3	0,7	0	0	0
588	14 m.	18	—	200	0	—	38,4	2,5	0	0	0
591	29 m.	21	—	200	0	—	39,6	3,2	2	0	0
594	9 w.	6	—	200	0	—	?	0,6	0	0	0
598	— m.	X	—	200	0	—	?	2,0	0	—	—
599	— m.	X	—	200	0	—	?	1,0	0	—	—
609	8 m.	14	—	50	0	—	39,3	0,15	0	0	0
612	18 w.	X	—	100	0	—	37,5	0,5	0	0	—
613	18 w.	X	—	200	0	—	37,5	1,0	0	0	—
624	18 w.	4	—	200	0	—	39,2	20,0	8	0	0
701	— —	X	—	2000	0	—	?	0,75	0	—	—
721	17 w.	3	—	5000	1000	1000	39,5	3,0	20	—	—
727	— m.	X	2000	2000	1000	—	?	8,0	0	—	—
776	26 m.	9	—	200	100	—	39,4	0,9	0	—	—
	26 m.	37	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	26 m.	67	—	—	—	—	37,0	—	—	0	0
780	15 w.	X	200	0	0	—	?	0,75	0	—	—
788	13 m.	21	200	0	50	—	37,4	0,75	0	0	0
795	16 m.	14	200	100	0	—	?	1,0	0	+	—
801	18 w.	X	—	200	50	—	?	0,3	0	—	—
	18 w.	+ 6	0	—	0	—	36,4	0,3	0	—	—
802	2½ w.	2	200	0	0	—	40,3	0,6	0	—	—
	2½ w.	7	0	—	0	—	36,4	0,3	0	—	—
813	34 w.	9	200	0	0	—	39,5	0,75	0	0	0
816	16 m.	9	100	30	0	—	38,5	0,75	0	00	0
876	26 m.	23	—	—	—	—	—	—	—	0	00
	26 m.	43	—	—	—	—	—	—	—	+	+
887	11 m.	5	200	—	30	—	?	0,3	0	0	0
892	16 m.	24	200	0	0	—	37,7	1,2	0	—	—
893	19 m.	X	0	100	0	—	?	6,5	0	0	0
933	— w.	6	—	—	—	—	38,9	—	—	+	—
947	10 m.	X	200	200	0	—	?	0,7	0	+	00
955	17 w.	X	1000	200	0	—	?	4,0	10	+	00
	17 w.	+ 30	—	—	—	—	—	—	—	0	0
958	68 m.	4	50	50	0	—	38,0	0,1	0	0	0
982	— —	X	200	—	0	—	?	0,2	0	—	—
1009	7 m.	16	2000	50	50	—	?	0,35	0	+	+
	7 m.	47	—	—	—	—	—	—	—	0	0
1019	— w.	X	100	50	0	—	?	0,25	0	—	—
1034	24 m.	20	2000	2000	50	—	?	3,5	0	0	0
	24 m.	27	—	—	—	—	—	—	—	0	0
1091	36 m.	7	—	—	—	—	—	—	—	+	00
	36 m.	19	—	—	—	—	—	—	—	0	00
1139	16 m.	9	50	200	0	—	40,7	2,0	1	0	0
	16 m.	35	—	—	—	—	37,5	—	—	0	00
1204	15 m.	10	0	100	0	200	?	1,0	66	—	—
1205	17 m.	10	50	50	0	—	38,5	1,0	0	—	—
1244	— m.	15	0	0	0	0	40,0	1,0	43	—	—
1245	18 m.	11	—	—	—	—	39,3	—	—	+	+

Buchnummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm	Fieber	Blutmenge	Kolonieenzahl	Stuhl	Urin
1264	9 m.	8	—	—	—	—	40,0	—	—	+	00
1267	6 w.	8	—	—	—	—	38,6	—	—	+	+
1280	23 m.	14	200	200	0	—	?	0,6	0	0	00
	23 m.	54	—	—	—	—	0	—	—	0	00
1282	41 m.	13	—	—	—	—	—	—	—	+	00
	41 m.	52	—	—	—	—	—	—	—	0	00
1297	— m.	X	0	0	0	—	?	0,2	35	—	—
1312	13 w.	20	200	0	0	—	?	0,25	0	—	—
1330	17 m.	10	0	0	0	0	39,9	1,7	22	—	—
1337	21 m.	7	100	50	0	—	?	1,0	30	—	—
	21 m.	13	—	—	—	—	—	—	—	0	0
1367	33 w.	8	200	30	0	—	40,2	1,4	60	—	—
1369	8 m.	X	100	0	0	—	?	0,25	0	+	0
1386	46 w.	12	50	200	0	—	39,7	2,5	0	0	—
1388	40 m.	12	200	0	0	—	?	0,6	0	+	00
	40 m.	31	—	—	—	—	37,0	—	—	0	00
1392	28 m.	17	—	—	—	—	—	—	—	+	00
	28 m.	53	—	—	—	—	—	—	—	0	0
1412	26 w.	12	—	—	—	—	—	—	—	+	0
1423	11 m.	10	200	200	0	—	?	2,5	0	—	—
1452	69 w.	6	—	—	—	—	—	—	—	0	+
1467	64 m.	14	200	5000	50	—	39,6	1,75	0	+	+
1475	9 w.	10	200	0	50	—	38,8	1,7	0	0	0
1478	23 m.	10	200	100	0	—	39,5	1,0	0	—	—
1485	37 m.	7	—	—	—	—	—	—	—	+	00
	37 m.	21	—	—	—	—	—	—	—	0	00
1492	12 m.	14	200	50	0	500	39,3	1,6	1	+	0
1501	36 m.	X	—	—	—	—	?	—	—	+	—
1510	21 m.	14	100	100	0	—	?	1,1	0	0	00
1513	41 m.	12	0	0	0	0	39,6	0,9	27	0	00
	41 m.	50	—	—	—	—	—	—	—	0	00
	41 m.	57	—	—	—	—	—	—	—	+	0
	41 m.	67	—	—	—	—	—	—	—	0	0
1516	29 w.	12	100	50	0	100	39,6	0,75	20	+	0
	29 w.	27	—	—	—	—	—	—	—	0	0
1530	26 m.	9	0	0	0	50	38,9	1,2	18	—	—
1549	— m.	12	30	100	100	—	?	0,75	0	00	00
	— m.	20	—	—	—	—	38,5	—	—	0	0
1550	46 w.	2	100	200	100	—	39,2	1,5	0	—	—
1557	15 m.	7	100	100	0	200	40,0	0,8	7	0	0
1560	56 m.	10	0	0	0	0	?	3,3	94	0	0
1572	24 m.	12	0	0	0	0	39,5	1,6	26	0	0
	24 m.	43	—	—	—	—	—	—	—	0	00
1601	28 m.	8	0	0	50	50	38,2	1,5	0	+	0
1613	25 w.	14	0	0	0	100	39,8	2,3	120	—	—
1636	24 m.	9	200	30	30	200	?	1,0	0	+	00
1652	18 m.	8	100	50	0	—	?	0,6	0	—	—
1655	19 m.	19	100	200	30	—	38,6	0,8	0	0	00
1660	58 w.	8	0	0	0	—	38,0	1,1	0	0	0
	58 w.	13	0	0	0	0	37,0	0,75	30	0	0
1677	36 m.	12	200	30	0	—	39,2	1,6	0	—	—
1678	7 w.	X	—	—	—	—	?	—	—	+	—
1680	14 w.	17	1000	500	50	500	39,2	0,7	24	0	0
1684	— w.	8	200	0	0	200	38,5	2,8	2	—	—
1685	— m.	8	200	200	0	—	39,0	1,1	0	—	—
1701	23 m.	11	—	—	—	—	40,0	—	—	+	00
1708	— m.	8	0	0	0	50	40,1	2,6	66	+	—

Buch-nummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm	Fieber	Blutmenge	Kolonieenzahl	Stuhl	Urin
1719	22 w.	7	50	30	0	—	39,8	0,75	0	+	+
1722	20 w.	6	100	100	30	500	39,6	1,0	46	—	—
	20 w.	16	200	200	0	—	37,0	0,75	0	0	0
1723	10 w.	15	—	—	—	—	?	—	—	0	+
1730	15 w.	7	100	500	100	—	38,2	0,75	0	0	0
1731	15 m.	4	200	100	0	—	41,1	0,4	0	—	—
	15 m.	9	—	—	—	—	—	—	—	0	+
1735	24 m.	21	50	200	0	200	39,9	1,0	160	—	—
1737	52 m.	8	200	0	50	—	?	2,0	0	0	00
1758	23 m.	13	200	50	0	—	?	0,2	0	0	00
1781	23 m.	14	50	100	0	100	39,2	1,4	6	—	—
1797	7 m.	10	50	200	0	30	?	1,0	1	0	0
1816	60 w.	6	0	0	0	—	39,3	1,0	0	0	00
	60 w.	14	0	0	0	100	39,0	1,1	34	—	00
1824	23 m.	7	0	200	0	—	39,7	1,3	0	—	—
1837	30 w.	22	200	200	0	—	?	1,0	0	—	—
1851	40 m.	14	50	100	30	0	40,1	1,5	13	—	—
1868	— w.	X	200	100	0	—	39,8	1,2	0	0	0
1893	20 w.	X	500	100	0	—	39,0	0,75	0	0	—
1896	32 w.	5	50	100	50	—	38,0	0,75	0	0	0
1909	26 m.	14	200	200	0	—	38,8	0,75	0	+	00
	26 m.	53	—	—	—	—	0	—	—	0	0
1921	28 m.	6	200	100	0	500	39,8	0,75	0	+	—
1928	36 m.	14	0	50	0	200	40,3	1,0	50	0	—
1942	14 m.	8	0	0	0	—	39,4	0,5	0	0	00
	14 m.	36	30	200	50	—	38,4	0,5	0	0	0
1946	50 w.	14	200	200	0	500	40,0	0,9	27	00	00
1957	4 w.	X	30	200	0	—	40,0	0,8	0	—	—
1958	15 m.	7	0	100	100	—	39,8	0,15	0	0	00
	15 m.	28	200	100	0	—	38,7	0,35	0	0	0
1963	24 w.	12	0	0	0	—	39,8	0,1	0	0	0
	24 w.	15	—	—	—	—	—	—	—	0	0
	24 w.	25	200	50	0	—	37,9	1,6	0	—	—
1982	8 w.	9	50	200	0	200	39,5	2,0	70	+	0
	8 w.	30	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	8 w.	45	—	—	—	—	0	—	—	0	0
1986	44 m.	14	50	200	0	—	39,5	0,4	0	0	—
1988	29 w.	14	2000	2000	50	—	?	1,0	0	—	—
1989	41 m.	6	100	100	0	—	39,5	1,5	0	—	—
1998	58 m.	21	200	200	0	—	38,6	5,5	0	—	00
	58 m.	36	—	—	—	—	37,0	—	—	0	0
2014	11 m.	5	100	30	0	—	39,6	0,75	0	0	00
2018	40 w.	X	30	0	0	0	?	3,0	40	0	0
2019	18 m.	X	50	0	0	—	?	1,0	0	0	00
2027	15 m.	7	200	0	30	—	39,1	1,4	0	—	—
2045	24 m.	4	100	100	0	—	?	0,4	0	—	0
2055	35 w.	14	100	100	0	—	39,5	1,0	0	—	—
2071	19 m.	14	100	100	0	—	37,0	1,2	0	—	0
2073	20 w.	26	—	—	—	—	—	—	—	0	—
	20 w.	40	500	1000	0	2000	39,0	2,0	20	—	—
2086	23 w.	9	50	500	0	500	38,6	0,6	0	+	0
2089	18 w.	14	30	200	0	200	40,2	1,3	6	0	—
2126	29 w.	20	0	0	0	—	39,8	0,3	0	0	0
	29 w.	76	1000	2000	0	—	36,8	0,6	0	—	—
2132	16 m.	6	200	200	30	500	39,2	2,0	14	—	—
2136	12 m.	16	0	100	0	—	38,5	0,3	0	+	0
2139	— m.	X	100	100	0	200	?	2,0	19	0	00

Buch-nummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm	Fieber	Blutmenge	Kolonieenzahl	Stuhl	Urin
2142	7 w.	7	50	50	0	—	38,6	0,2	0	0	0
2155	15 w.	3	200	200	0	—	39,9	0,4	19	—	—
	15 w.	11	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2173	27 m.	6	200	200	0	—	37,2	1,7	0	0	00
	27 m.	20	—	—	—	—	—	—	—	0	00
2212	16 m.	2	0	0	0	0	?	0,7	7	0	0
2229	32 m.	14	2000	1000	0	2000	39,5	1,2	3	—	—
2259	26 m.	10	0	0	0	—	?	1,1	0	0	0
	26 m.	23	0	0	0	—	38,0	1,5	0	—	—
	26 m.	27	—	—	—	—	39,0	—	—	0	—
	26 m.	35	100	30	0	200	40,1	1,0	100	—	—
2331	26 m.	7	200	200	0	200	38,9	1,1	0	+	0
2341	13 w.	10	50	100	0	200	40,1	0,9	17	—	—
2342	3 w.	8	50	50	0	—	38,6	0,3	0	0	0
2348	38 m.	21	50	50	30	200	37,7	1,1	4	0	00
	38 m.	60	—	—	—	—	0	—	—	0	00
2359	56 w.	8	100	100	0	—	38,0	0,6	0	0	—
2361	30 m.	28	500	500	0	—	38,3	1,0	0	0	0
2372	30 m.	8	50	50	0	—	?	0,7	0	—	—
2405	28 m.	23	100	50	0	—	38,0	0,35	0	—	—
	28 m.	33	—	—	—	—	—	—	—	0	—
	28 m.	50	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2427	17 w.	9	—	—	—	—	—	—	—	+	0
	17 w.	12	500	500	0	1000	38,0	2,0	0	+	0
2455	22 m.	15	200	200	0	—	39,0	0,6	0	—	—
2470	30 m.	9	100	100	0	—	40,4	0,9	12	+	00
2486	12 m.	3	—	—	—	—	—	—	—	0	00
	12 m.	19	—	—	—	—	—	—	—	0	+
2499	30 w.	8	30	50	0	200	38,6	1,8	10	—	0
	30 w.	25	—	—	—	—	37,0	—	—	0	00
	30 w.	29	—	—	—	—	0	—	—	0	+
	30 w.	52	—	—	—	—	0	—	—	0	0
2508	15 w.	5	50	30	0	100	39,8	1,1	3	—	0
	15 w.	9	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2515	59 w.	11	—	—	—	—	—	—	—	+	+
2533	8 w.	11	200	200	0	—	39,5	0,4	0 ?	—	—
2553	29 m.	14	100	100	0	—	38,0	1,0	0 ?	—	—
2573	14 m.	28	200	30	0	—	37,0	1,0	0	—	00
2610	40 m.	8	200	200	0	200	39,9	3,2	9	0	0
2624	54 m.	8	50	100	0	—	39,7	1,0	0	0	0
2632	22 w.	55	100	200	0	—	38,3	0,6	0	0	0
	22 w.	84	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2674	— w.	8	200	100	0	200	38,9	4,7	81	—	—
	— w.	13	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2675	39 m.	8	200	200	0	—	40,3	1,2	0	—	—
2707	24 m.	15	—	—	—	—	—	—	—	+	0
2720	64 w.	23	—	—	—	—	—	—	—	+	0
2726	55 m.	14	200	200	0	200	40	1,4	29	—	0
2733	17 m.	X	—	—	—	—	—	—	—	+	0
2743	19 m.	X	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2745	26 w.	3	100	200	50	—	38,7	0,7	0	0	0
	26 w.	9	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2754	8 m.	X	200	200	50	—	38,9	0,2	0	+	00
2764	5 m.	X	0	0	0	—	39,5	0,2	—	0	00
	5 m.	+ 6	200	200	0	—	37,0	0,3	0	—	—
2764	— w.	18	200	200	200	—	39,0	0,25	0	0	0
2806	43 w.	21	200	50	0	—	39,0	1,2	0	0	0

Buchnummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für				Fieber	Blutmenge	Kolonieenzahl	Stuhl	Urin
			Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm					
2821	— m.	7	100	50	50	—	?	4,0	0	0	0
2851	56 m.	22	500	200	0	—	40	1,0	0	—	—
2854	33 m.	12	500	500	50	2000	38,8	1,0	30	00	0
2857	34 w.	5	50	50	0	—	37,2	0,05	0	0	0
2888	23 m.	14	0	0	0	—	?	0,05	0	0	—
	23 m.	18	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2904	24 m.	14	100	100	0	—	38,2	0,2	0	—	—
2928	11 w.	28	50	50	0	—	?	1,8	0	0	0
2931	24 m.	20	50	200	0	200	39,4	5,0	215	—	—
2932	— m.	4	0	0	0	100	38,9	1,0	11	—	—
2950	22 m.	9	200	200	0	—	38,9	0,3	0	—	—
2967	37 m.	X	50	100	0	—	38	1,5	0	—	—
2973	32 m.	9	50	100	0	100	40,3	4,6	256	—	—
	32 m.	13	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2974	19 w.	20	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	19 w.	23	—	—	—	—	—	—	—	+	+
2987	9 m.	4	0	0	0	0	39,0	0,6	15	—	—
3008	16 m.	2	30	50	0	—	39,0	0,6	0	—	—
	16 m.	6	200	200	0	—	?	?	0	—	00
3026	28 w.	4	200	1000	30	1000	38,5	1,0	3	—	—
3027	26 m.	10	—	—	—	—	—	—	—	+	0
3031	33 m.	13	200	200	0	—	40,0	0,4	0	—	—
3044	8 m.	2	0	0	0	0	39,0	1,0	16	—	—
3085	19 m,	6	200	100	0	—	38,7	0,4	0	0	0
3060	16 w.	4	0	0	0	100	40,0	0,75	2	0	—
3103	5 w.	2	100	0	0	—	39,4	0,4	0	—	—
	5 w.	5	—	—	—	—	—	—	—	0	0
3104	55 m.	14	100	50	30	100	37,0	1,2	0	+	+
3116	13 w.	5	1000	500	0	—	37,9	1,0	0	—	—
3118	13 w.	10	200	200	50	—	40,2	0,8	0	—	—
3128	8 w.	3	30	200	30	200	37,8	1,6	0	+	0
3131	4 m.	8	0	0	0	0	39,9	0,6	49	—	—
3140	40 m.	5	200	200	50	—	39,3	2,0	0	—	—
3143	22 m.	2	50	200	0	200	39,2	1,0	2	—	—
3146	39 w.	24	100	100	50	—	?	0,2	0	0	0
3154	13 w.	17	200	50	0	200	?	0,7	3	0	—
1. Jan. 07											

Die Menge des eingesandten Blutes ist in den Tabellen angegeben, um zu zeigen, daß das hiesige Untersuchungsamt durchweg genügende Blutproben enthält.

Wir verreiben, was meist nur wenige Minuten beansprucht, die Blutkuchen mit Glasspateln (12) auf nicht zu dünn gegossenen scharf getrockneten Schalen des v. Drigalski-Conradischen Lackmus-Laktose-Agars. Die Typhuskolonieen sind nach 12—20 Stunden, Paratyphuskolonieen oft schon nach 10 Stunden so groß, daß sie eine orientierende Agglutinationsprüfung gestatten, deren positiver Ausfall bisher stets durch die endgültige Prüfung bestätigt wurde. Nach dieser Zeit konnte also dem Einsender über das Ergebnis berichtet werden.

Die Zahl der Kolonieen schwankt in den weitesten Grenzen und ist bisweilen so groß, daß wir eine Anreicherung innerhalb des Blutkuchens während des Postversandes annehmen müssen. Die Verteilung der Keime im Kuchen ist oft ungleichmäßig, wovon uns

Tabelle II

enthält alle bakteriologisch nachgewiesenen Paratyphusfälle. Bezeichnungen wie bei Tabelle I.

Buchnummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm	Fieber	Blutmenge	Kolonieenzahl	Stuhl	Urin
1. Dez. 05											
1932	29 w.	18	0	—	5000	—	39,0	2,0	1	+	+
2037	16 w.	50	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2065	— —	X	—	—	—	—	—	—	—	+	0
	— —	+10	—	—	—	—	—	—	—	0	—
2093	— w.	14	—	—	—	—	—	—	—	+	+
2160	— m.	X	0	—	100	—	0 ?	0,75	0	0	—
2747	32 m.	6	—	—	—	—	—	—	—	+	00
2751	26 m.	8	30	—	100	—	38,4	10,0	0	—	—
	26 m.	13	—	—	—	—	—	—	—	+	00
2791	1 m.	10	—	—	—	—	—	—	—	+	—
1. April 06											
343	1 w.	21	—	200	200	—	39,0	0,4	0	0	—
	1 w.	29	—	—	—	—	37,5	—	—	+	—
	1 w.	50	—	—	—	—	0	—	—	0	—
	1 w.	68	—	—	—	—	—	—	—	0	—
345	25 w.	8	—	1000	200	—	38,4	1,0	0	+	0
	25 w.	17	—	—	—	—	37,5	—	—	+	00
	25 w.	38	—	—	—	—	0	—	—	+	0
	25 w.	50	—	—	—	—	0	—	—	0	0
	25 w.	68	—	—	—	—	0	—	—	0	—
394	17 m.	0 !	—	50	200	—	0	0,75	0	0	—
395	— m.	0 !	—	50	200	—	0	0,5	0	0	00
396	— m.	0 !	—	50	200	—	0	1,0	0	0	—
397	— m.	0 !	—	0	200	—	0	2,0	0	0	00
463	18 w.	9	—	30	1000	—	38,2	2,0	0	—	—
465	23 w.	12	—	0	500	—	40,0	1,5	0	0	00
	23 w.	50	—	—	—	—	37,5	—	—	0	00
483	6 m.	10	—	0	200	—	?	0,3	0	0	0
	6 m.	14	—	0	0	—	?	0,1	0	+	0
	6 m.	46	—	—	50	50	0	0,15	0	0	0
542	3 w.	9	—	—	—	—	?	—	—	+	+
563	28 w.	9	—	30	30	—	38,6	0,1	0	+	+
583	$4^1/_2$ m.	5	—	—	—	—	—	—	—	+	00
620	18 m.	6	—	200	30	100	39,8	2,0	4	+	00
	18 m.	14	—	0	0	0	36,8	1,0	0	0	00
706	15 w.	4	1000	2000	1000	3000	38,6	1,6	8	+	0
	15 w.	22	—	—	—	200	?	0,5	—	—	—
707	44 m.	9	200	200	100	—	?	0,3	0	+	—
710	— m.	X	—	—	—	—	—	—	—	+	—
751	— m.	21	—	0	0	—	36,9	0,7	0	+	—
756	— w.	X	—	0	0	200	?	1,5	2	—	—
902	21 w.	6	0	0	500	—	?	0,9	0	—	—
913	20 w.	X	0	0	0	—	39,0	0,5	0	—	—
	20 w.	+ 3	0	0	200	—	?	1,0	0	—	—
970	18 w.	9	0	0	2000	—	?	0,8	0	—	—
1088	5 w.	X	0	0	1000	—	39,6	0,8	0	+	+
	5 w.	+ 7	—	—	—	—	37,5	—	—	+	—
	5 w.	+32	—	—	—	—	37,5	—	—	+	—
1171	3 m.	X	—	—	—	—	?	—	—	+	0
1173	19 m.	5	—	—	—	—	—	—	—	+	00
1175	2 m.	14	—	—	—	—	—	—	—	+	0
1177	13 w.	9	0	0	200	—	?	0,6	1	+	0

Buch-nummer	Alter, Geschlecht	Krankheitstag	Titer des Serums für Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B	Eig. Stamm.	Fieber	Blutmenge	Kolonieenzahl	Stuhl	Urin
1212	38 m.	10	—	—	—	—	—	—	—	+	00
	38 m.	17	0	0	1000	3000	?	0,6	0	—	—
	38 m.	25	—	—	—	—	37,5	—	—	+	00
	38 m.	37	—	—	—	—	—	—	—	0	—
1238	31 w.	14	0	0	100	—	36,4	0,3	0	0	00
	31 w.	24	—	—	—	—	—	—	—	0	00
1270	11 w.	12	50	50	200	—	38,7	1,3	0	+	00
1309	22 w.	14	0	0	2000	—	40,7	1,0	0	—	—
1395	16 w.	X	0	0	200	—	39,2	0,7	0	+	0
	16 w.	+21	—	—	500	—	37,0	0,6	0	—	—
	16 w.	+27	—	—	—	—	—	—	—	0	0
1422	46 m.	16	—	—	—	—	39,0	—	—	0	+
1429	18 w.	8	—	—	500	—	39,7	0,2	1480	—	—
1430	40 m.	X	0	0	500	—	?	0,35	0	+	00
1533	19 w.	9	—	—	—	—	—	—	—	+	00
	19 w.	12	0	0	500	—	39,6	1,1	0	—	—
	19 w.	32	—	—	—	—	37,0	—	—	0	00
1614	13 w.	10	0	0	100	50	39,5	1,8	4	—	—
1757	19 w.	10	50	50	200	200	40,0	2,0	2	+	0
	19 w.	23	—	—	—	—	37	—	—	+	+
	19 w.	43	—	—	—	—	37	—	—	0	00
1775	14 m.	2	0	0	200	—	?	0,3	0	0	0
1778	16 m.	14	0	0	0	—	?	0,3	0	—	—
	16 m.	19	—	—	—	—	—	—	—	+	0
2065	33 m.	X	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	33 m.	+ 1	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	33 m.	+35	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2095	30 m.	14	0	0	2000	—	?	0,4	0	—	—
2097	24 w.	14	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2114	26 m.	5	0	0	200	—	?	1,2	0	+	00
	26 m.	25	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2129	— m.	15	0	0	500	—	?	0,3	0	00	00
2207	24 m.	5	50	30	500	1000	39,5	1,3	9	+	00
	24 m.	13	0	0	1000	—	38,6	1,6	0	—	—
	24 m.	30	—	—	—	—	37,0	—	—	+	0
	24 m.	42	—	—	—	—	0	—	—	0	00
2216	49 m.	4	0	0	0	50	38	3,2	1	—	—
	49 m.	9	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	49 m.	10	—	—	—	—	—	—	—	+	—
2253	25 m.	11	0	0	5000	5000	38,2	1,0	0	+	00
	25 m.	34	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	25 m.	43	—	—	—	—	—	—	—	0	0
2262	24 m.	X	0	0	200	—	39,0	0,35	0	+	—
2307	15 m.	X	0	0	200	—	39,8	0,75	0	+	00
	15 m.	+ 7	—	—	—	—	—	—	—	0	00
	15 m.	+21	—	—	—	—	—	—	—	0	00
2518	14 m.	X	—	—	—	—	—	—	—	+	0
2588	4 m.	7	0	0	500	—	36,9	0,2	0	00	00
2595	52 w.	0!	—	—	—	—	37,0	—	—	+	0
2791	18 m.	8	50	0	200	—	39,3	1,4	0	+	00
	18 m.	31	—	—	—	—	—	—	—	0	00
2940	17 w.	X	0	0	200	—	39,0	0,35	0	+	0
2959	50 w.	0!	—	—	—	—	0	—	—	+	0
	50 w.	+ 7	—	—	—	—	0	—	—	0	0
1. Jan. 07											

Aussaaten von Teilstücken auf mehreren Platten überzeugten. Das Aussehen der jungen wassertröpfchenartigen Kolonieen, sowie die eigenartige wackelnde Bewegung der vielfach zu längeren Fadenstücken verbundenen Stäbchen im hängenden Tropfen hat etwas so Charakteristisches, daß man daraufhin schon eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose stellen kann.

Von Verunreinigungen kommen öfter aus der Haut stammende Staphylokokken zum Auskeimen; sie wachsen auf den blauen Platten (im Gegensatz zu gewöhnlichem Agar) nur kümmerlich und sind schon durch ihr opakes Aussehen im durchfallenden Licht zu unterscheiden. Bisweilen wächst eine sehr üppige blauweißliche Staphylokokkenart. Manchmal fanden sich einige den Typhuskolonieen gleichende Stäbchenkolonieen, die aber im hängenden Tropfen eine andersartige lebhaft schießende Bewegung zeigten und nicht agglutiniert wurden; am nächsten Tage hatten sie eine gelbe Farbe angenommen. In einigen Fällen (Tab. I, 2105, 105, 594, 2533, 2553) war die Blutentnahme so unsauber erfolgt, daß alle Aussaaten durch mehrere Keimarten wie B. proteus, fluorescens, mesentericus u. a. überwuchert und so die Erreger darunter nicht zu finden waren. Bei sauberer Entnahme finden sich diese in Reinkultur auch nach längerem Versande durch die Post.

Vielleicht wird jemand fragen, warum eine so einfache Sache nicht früher gefunden wurde. Die Antwort lautet, weil bis dahin allgemein angenommen wurde, daß die Bakterien im Blutkuchen durch die bakteriziden Kräfte abgetötet würden. Wir glauben die ersten zu sein, die gezeigt haben, daß dem nicht so ist.

Warum die Bakterien am Leben bleiben, darüber bestehen bereits verschiedene Anschauungen. Die Bakterien sitzen innerhalb des Blutkuchens durchaus nicht gleichsam auf dem Trocknen: Wir zerrieben größere Blutkuchen unserer Typhus- und Paratyphusimmunziegen mit einer Gewebezerreibungsmaschine (Hoffmeister-Berlin). Der Brei, mit 9 Teilen phys. NaCl-Lösung verdünnt, wurde zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit besaß immerhin noch durchschnittlich den zehnten Teil der Agglutinationskraft des entsprechenden spontan ausgepreßten und auf 1 : 10 verdünnten Serums. Deshalb nehmen wir an, daß sich im Blutkuchen rund 10 Proz. freier Flüssigkeit zwischen Fibrin und Blutkörperchen finden. Nun meint Conradi (19), das Fibrinnetz halte im Blutkuchen die bakteriziden Stoffe von den Bakterien fern. Dazu müßte man sich aber unseres Erachtens das Fibrin nicht in Netz- sondern in Membranform denken.

Wenn aber Conradi recht hat, so müssen wir für folgende Beobachtungen eine besondere Erklärung annehmen. Wir fanden auch in einer von Natur ungeronnen gebliebenen Blutprobe (Tab. I, 1560) die Erreger; wir fanden sie auch in den Hirudinblutproben; ferner wuchsen aus 2 Oesen ungeronnenen Blutes eines erst nach 14 Tagen geöffneten subkutanen Blutergusses 162 Kolonieen. Bezugnehmend auf unsere Hirudinmethode nehmen nun Eppenstein und Korte (6) (12. Juni 1906) an, daß sich während der Krankheit die Bakterien im Körper an die vernichtende Wirkung der Säfte gewöhnen, daß durch Zuchtwahl einzelne resistentere Keime am Leben bleiben. Diese beiden Autoren meinen, uns sei diese Erklärungsmöglichkeit entgangen; wir haben sie nicht zu bringen gewagt, weil sie nicht mit den von uns veröffentlichten Tatsachen im Einklang stand: nämlich unsere aus Kot isolierten lange fortgezüchteten Laboratoriumsstämme, Typhus wie Paratyphus, wucherten im Hirudinblute unserer Immuntiere wie in einem guten Nährboden, ohne daß diese Stämme zur Gewöhnung Gelegenheit gehabt hätten.

Kayser (16) meint, die bloße Anwesenheit von Körperzellen, also der Blutkörperchen, habe bakterienschützende Wirkung im Gefolge. Endlich nehmen ja Metschnikoff und seine Schule an, daß nur das Blutserum bakterizid wirke, nicht aber das Blutplasma des ungeronnenen Blutes, eine Ansicht, die den Ergebnissen der meisten deutschen Forscher nicht entspricht.

Uns scheint es, daß es bisher noch nicht einwandfrei gelungen ist, alle hierhin gehörigen Tatsachen in das Schema der bestehenden Theorieen hineinzuzwängen.

Tabelle III

enthält die Fälle, bei denen nach Angabe des Arztes Typhus klinisch anzunehmen, bei denen aber die bakteriologische Untersuchung (die Agglutination innerhalb 2 Stunden) nicht positiv war. Nicht angeführt sind 14 Fälle, wo auch die klinische Diagnose durchaus zweifelhaft blieb und weitere 13 Fälle, bei denen nur zur Nachuntersuchung von Rekonvaleszenten Stuhl und Urin eingesandt war. Bezeichnungen wie bei Tabelle I.

Buchnummer	Alter, Geschl.	Krankheitstag	Titer des Serums für			Fieber	Blutmenge	Stuhl	Urin
			Ty Preetz	Ty Kiel	Paraty B				
1. XII. 05									
1806	20 m.	18	—	—	—	—	—	0	00
2020	23 w.	X	—	—	—	—	—	0	0
	23 w.	+3	—	—	—	—	—	0	0
2028	— m.	X	0	—	0	?	0,1	0	—
2069	19 m.	10	0	—	0	?	0,5	0	0
2127	— w.	14	0	—	0	38,7	?	0	0
2146	39 m.	6	30	—	0	?	0,25	0	0
2282	27 w.	12	0	—	0	?	1,25	0	00
2326	65 m.	8	0	—	0	+	0,5	0	0
2340	17 m.	X	0	—	—	—	—	0	0
2495	43 m.	21	0	—	0	?	?	0	0
2687	17 w.	38	0	—	50	?	1,0	—	—
	17 w.	49	—	—	—	—	—	0	0
2756	18 m.	18	0	—	0	39,5	2,0	—	—
	18 m.	27	0	—	0	?	1,0	—	0
1. IV. 06									
141	16 m.	22	—	—	—	—	—	0	00
175	—	X	0	—	0	?	1,5	—	—
294	17 m.	15	—	—	—	—	—	0	0
636	45 m.	12	—	—	—	—	—	0	0
		42	—	—	—	—	—	0	0
670	2 m.	11	0	—	0	?	1,3	—	—
736	—	X	0	—	0	?	0,25	0	0
741	25 w.	19	—	—	—	—	—	0	0
866	53 m.	5	0	0	0	37,3	0,5	—	—
	— m.	15	—	—	—	—	—	0	0
	— m.	21	0	0	0	?	10,0	—	—
	— m.	30	—	—	—	—	—	0	00
986	28 w.	X	—	—	—	—	—	0	—
1024	— m.	X	—	—	—	—	—	0	0
1166	5 m.	6	—	—	—	—	—	0	0
1190	10 m.	8	0	0	0	37,6	0,35	0	0
1241	34 m.	21	0	0	0	37,6	1,2	0	0
1296	16 w.	6	0	0	0	37,0	1,0	—	—
	16 w.	20	0	0	0	0	0,75	0	0
1310	24 w.	12	—	—	—	—	—	0	0
1331	—	X	—	—	—	—	—	0	—
1338	50 w.	X	—	—	—	—	—	0	—
1380	40 m.	16	0	0	0	?	0,4	0	0
1433	40 m.	X	—	—	—	—	—	0	0
1441	18 m.	X	—	—	—	—	—	0	0
1483	19 w.	20	—	—	—	—	—	0	0
1500	36 m.	X	—	—	—	—	—	0	—
1502	10 w.	X	—	—	—	—	—	0	—
1503	10 w.	X	—	—	—	—	—	0	—
1551	35 w.	9	0	0	30	39,0	1,0	—	—
1576	15 w.	8	0	0	0	?	2,1	0	0
1628	21 m.	5	0	0	0	39,4	0,6	—	—
1639	25 m.	5	0	30	30	39,2	0,35	0	0
1664	17 m.	X	—	—	—	—	—	0	00
1714	45 m.	8	0	0	0	?	0,35	0	00
1807	—	28	0	0	0	37,5	0,1	—	0
1809	— w.	8	—	—	—	—	—	0	—
1847	34 w.	8	0	0	0	38,5	0,1	0	0
	34 w.	16	0	0	0	38,0	0,1	0	0
1862	40 w.	14	—	—	—	—	—	0	0
1912	9 m.	21	—	—	—	—	—	0	00
1965	— m.	X	—	—	—	—	—	0	00
2036	7 m.	5	—	—	—	—	—	0	00
2044	9 m.	X	0	0	0	?	1,1	0	—
2047	24 m.	12	30	0	0	?	8,0	—	—
2076	12 m.	7	0	0	0	?	0,3	0	0
2185	16 m.	8	0	0	0	37,8	0,6	0	0
2296	21 m.	6	0	0	0	37,8	0,6	0	00
	21 m.	13	—	—	—	—	—	0	—
2375	15 m.	5	0	0	0	?	0,1	0	0
2385	16 m.	4	0	30	0	39,5	2,7	—	—
2497	18 m.	X	—	—	—	—	—	0	00
2728	22 w.	8	0	0	0	39,3	6,0	—	—
2790	20 w.	12	—	—	—	40,1	—	0	—
2814	—	18	0	0	0	38,6	0,1	—	00
2968	19 w.	X	0	0	0	38,0	1,6	—	—
2986	9 w.	8	0	0	0	39,0	0,5	—	—
3007	15 m.	3	0	0	0	38,5	?	—	—
3043	36 m.	5	30	0	0	38,9	0,9	—	—
3053	53 w.	7	30	0	0	39,0	3,0	—	—
3070	14 m.	5	—	—	—	—	—	0	0
1. I. 07									

Ergebnisse der Blutkuchenaussaat.

Die beigefügten Tabellen I, II und III geben eine genaue Uebersicht über alle vom 1. Dez. 1905 bis 1. Januar 1907 eingelaufenen Typhus- und Paratyphus-, Blut-, Stuhl- und Urinproben. Unter den rund 360 Blutproben befinden sich viele von Rekonvaleszenten, sowie auch einige von gesunden Bacillenträgern. Seit dem 1. Dez. 1905 ist im

Kieler hygienischen Institute jede eintreffende typhusverdächtige Blutprobe nach unserer Methode ausgesät worden.

Auf diese Weise haben wir nun bis zum 1. Febr. 1907 in 110 solchen eingesandten Proben die Erreger nachgewiesen, darunter (Tab. II) in 10 Paratyphusfällen; ferner fanden wir im Blutkuchen eines Kranken bei zweimaliger Untersuchung den Streptococcus mucosus in Reinkultur (Tab. I, 300); da aber das Serum bei der zweiten Untersuchung Typhusbakterien bis 1:1000 agglutinierte, nehmen wir eine Mischinfektion an; also auch zum Nachweis solcher Bakteriämien ist unsere Methode geeignet. Weiterhin züchteten wir auch bei einigen Fällen von Sepsis (zum Teil auf gewöhnlichem Agar) Streptococcus pyogenes in großer Zahl aus dem Blutkuchen. Zweimal wurden aus eingesandtem Blute Stäbchen gezüchtet, die wir mit dem Typus „Känsche“ (Breslau) der Enteritisbakterien für identisch halten möchten; ihre genauere Charakterisierung, ausgeführt von Gräf, folgt am Schlusse dieser Arbeit.

Wie oft hat nun die Methode versagt? Um dies beantworten zu können, mußten wir wissen: 1) hat der betreffende Patient überhaupt Typhus gehabt; hierüber konnten wir uns in manchen Fällen durch weitere bakteriologische Untersuchung vergewissern, während wir in den übrigen Fällen auf die Angaben der Aerzte angewiesen waren; 2) an welchem Krankheitstage ist das Blut entnommen; denn in den späteren Krankheitstagen lassen sich ja die Erreger seltener züchten; 3) hat der Kranke Fieber gehabt, denn die Erreger finden sich, von seltenen Ausnahmen abgesehen, nur während des Fiebers im Blute; wir fanden sie nur zweimal, ohne daß Fieber bestand (Tab. I, 1660 und 2348). Bei vielen Proben fehlen uns nun aber diese Angaben alle oder teilweise; wir stellten deshalb ohne Auswahl alle diejenigen zusammen, bei denen bakteriologisch resp. klinisch Typhus anzunehmen und Krankheitstag und Temperatur mitgeteilt war. So ergaben sich 69 Züchtungen gegenüber 72 negativen Resultaten bei solchen Proben, bei denen Fieber über 38,5 ^{0} angegeben war. 19 Proben waren größer als 2 ccm, 22 kleiner als $^{1}/_{2}$ ccm; in keinem Falle waren sie von seiten des Untersuchungsamtes entnommen worden.

In 18 Proben fanden wir die Erreger, wo das Blutserum gar nicht (1:30=0) agglutinierte, in 6 weiteren Proben, bei denen die Agglutination nur eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose gestattete (1:30 oder 1:50=+). Hervorgehoben sei mit Lentz (19) noch, daß diese Resultate erzielt wurden durch Ausnützung desselben Blutkuchens, der früher als nutzlos beseitigt wurde.

Gleichzeitig mit unserer Arbeit erschien am 9. Jan. 1906 eine ähnliches bezweckende von Conradi (3). Er fängt das entnommene Blut in Galle auf. Diese Methode hat gegenüber unserer Hirudinmethode und unserer Blutkuchenaussaat den für die Praxis ausschlaggebenden Nachteil, daß mit der Blutprobe nicht die Widalsche Probe angestellt werden kann. Conradi legt großen Wert auf die Anreicherung der Bacillen in der Galle. Eine solche tritt aber auch im Hirudinblute, wahrscheinlich sogar oft innerhalb des Blutkuchens auf. Da wir aber den ganzen Kuchen aussäen, ist bei unserem Verfahren eine Anreicherung unnötig, denn sie kann natürlich nur in solchen Proben stattfinden, in denen lebende Erreger vorhanden sind; sind sie aber vorhanden, so haben wir keine Veranlassung anzunehmen, daß sie bei der Blutkuchenaussaat nicht auskeimen sollten; dann aber ist eine einzige Kolonie für die Diagnose auch völlig ausreichend. Außerdem schiebt die Anreiche-

rung die Diagnose einen Tag hinaus. Es ist uns nicht bekannt geworden, daß die Conradische Gallenmethode sich im Betriebe eines Untersuchungsamtes nach Art des hiesigen als allgemein durchführbar erwiesen hätte; denn es ist etwas ganz anderes, ob geschulte Bakteriologen einer Typhusstation persönlich, vielleicht gar in einer Klinik und durch Venenpunktion die Probe entnehmen, oder ob, wie bei uns, alle Blutproben durch die behandelnden oder beamteten Aerzte eingesandt werden. Conradis letzte Veröffentlichung (4) läßt entnehmen, daß auch er jetzt annimmt, daß die Züchtung aus dem Blutkuchen sich am meisten einbürgern wird, wobei er allerdings das Fornetsche Verfahren im Auge hat.

Dieses von Fornet (10) am 29. Mai 1906 angegebene Verfahren steht etwa in der Mitte zwischen dem Conradischen und dem unsrigen. Es hat ebenso wie das unsere vor dem Conradischen den Vorteil der Einfachheit und, was am wesentlichsten ist, daß auch gleichzeitig die Serumprüfung angestellt werden kann. Infolge der Anreicherung in der Galle dauert aber die Stellung der Diagnose einen Tag länger als bei dem unsrigen. Seit kurzem verarbeiten wir die eine Hälfte jedes Blutkuchens nach der Fornetschen, die andere nach unserer Methode. Bis jetzt waren die Resultate annähernd gleich, indem darunter in 3 Fällen die Galle versagte, wo unsere Aussaat positiv war, in einem Falle die unsere versagte, wo die Galle positiv war. Doch sind unsere Zahlen in dieser Richtung bis jetzt zu klein, um ein endgültiges Urteil zu gestatten.

II. Agglutinationsprüfung der Krankensera.

Technik: Von jedem Serum wird der Endtiter für Bact. typhi und B. paratyphi B festgestellt, und zwar makroskopisch. Von der Kolleschen Technik weichen wir dabei insofern ab, als nicht je eine Oese in den einzelnen Serumverdünnungen verrieben, sondern von einer jungen Agarschrägkultur eine Bakterienabschwemmung hergestellt wird. Von dieser werden, wie bereits früher von B. Fischer (9) und H. Gräf (12) erwähnt, 0,6, 0,8, 0,9, 0,95 ccm zu 0,3, 0,2, 0,1, 0,05 ccm einer $^1/_{10}$-Verdünnung des Krankenserums hinzugefügt, also von jeder Probe sofort die Verdünnungen 1:30, 1:50, 1:100, 1:200 gleichzeitig angesetzt. Sind diese sämtlich positiv, so werden ebenso mit $^1/_{100}$ Krankenserum die höheren Verdünnungen angesetzt. Die Bakterienabschwemmung wird aus einem von R. Müller angegebenen tulenförmigen Pipettierglas (vergl. nebenstehende Zeichnung) den Serumverdünnungen hinzugefügt. Vorzüge: Kein Ansaugen mit dem Munde, Ausnutzung der Aufschwemmung bis 0,3 ccm, schnelles exaktes Arbeiten! — Zeigen Verdünnungen von 1:100 deutliche Agglutination innerhalb 2 Stunden, so nehmen wir die Diagnose als gesichert an; ist nur 1:50 oder 1:30 positiv, so bezeichnen wir die Diagnose als nur wahrscheinlich.

In ihren Untersuchungen „Ueber Rassendifferenzen von Typhusstämmen“ haben Friedberger und Moreschi (11) gezeigt, daß das Verhalten von verschiedenen Typhen gegenüber spezifischen Seren ein recht differentes ist. Dieser Nachweis, verbunden mit der bekannten Tatsache, daß sich bei dauernder Fortzüchtung die Agglutinierbarkeit von Typhusbakterien ändert, veranlaßte uns, das Verfahren bei der Widal-Reaktion etwas umzugestalten. Zuerst gingen wir von Zeit zu Zeit zu neuen, als gut agglutinabel erkannten Stämmen über. Als wir aber versuchsweise eine Reihe von Krankenseren gleichzeitig mit zwei verschiedenen Typhusstämmen prüften, bewogen uns die damit erzielten guten Ergebnisse, dies auch weiterhin durch-

zuführen. Die benutzten zwei Stämme „Preetz“ und „Kiel“ sind sichere Eberth-Gaffkysche Typhuskulturen verschiedener Herkunft von völlig typischem Wachstum, die durch unser Ziegenserum bis zum Endtiter (1:20000) beeinflußt wurden.

Früher wurde im hiesigen Institut jedes Krankenserum mit B. typhi, B. paratyphi Typus A und B angesetzt. An Stelle von B. paratyphi A, dessen Vorkommen in der Provinz von uns noch nicht beobachtet worden ist, setzten wir nun einen zweiten Typhusstamm.

Beigefügte Tabelle IV gibt unsere Resultate bei der Anwendung der beiden Typhusstämme näher an. Es sind hier nur die Sera angeführt, gegen welche sich die Stämme verschieden verhalten haben. Sie sind den Tabellen I und III entnommen. Tabelle IV enthält 75 Sera; 13 weitere Sera, die nur in Intensität der Ausflockung Unterschiede zeigten, sind aus Gründen der Raumersparnis weggelassen. Es ist stets der Endtiter nach den einzelnen Zeiten angegeben.

Zusammenfassend ergeben sich aus der Tabelle folgende Resultate: I. Es wird ein Stamm agglutiniert, der zweite gar nicht; so Typhus „Preetz“ 13mal hoch, wo „Kiel“ versagt (Tabelle IV, 780, 788, 802, 813, 892, 1312, 1369, 1388, 1677, 1684, 2019, 2027, 3103). Das Umgekehrte ist der Fall bei 5 Fällen: 893, 1475, 1824, 1958, 2136, wo Stamm „Preetz“ ein negatives Ergebnis liefert. II. Der eine Stamm wird höher als der andere agglutiniert. III. Bei gleich hohen Serumverdünnungen ist die Ausflockung des einen Stammes stärker. Betont sei hier gleich, daß nur gröbere Unterschiede in Tabelle IV Aufnahme gefunden haben. — Bei „Preetz“ trat im allgemeinen die Agglutination meist langsamer ein, erfolgte aber noch in stärkeren Verdünnungen. Bei „Kiel“ dagegen verlief die Reaktion meist bedeutend schneller und es war dann die Ausflockung grobflockig bis zum Endtiter ausgesprochen. IV. Es zeigen sich für einen Stamm Hemmungszonen, die bei dem anderen ganz fehlen oder bei anderen Verdünnungen beobachtet werden. — Das Vorhandensein von Hemmungszonen wurde von uns beobachtet bei 10 Seren (Tabelle IV, 955, 1139, 1386, 1478, 1492, 1781, 1797, 2745, 2806, 3103). Hätten wir bei diesen Seren, wie vielfach üblich, die Agglutination nur in einer Verdünnung angestellt, so wäre es uns zum Teil nicht möglich gewesen, die Diagnose zu stellen. Also ist es ratsam, stets gleichzeitig die ganze Agglutinationsreihe 1:30 bis 1:200 oder 1:2000 anzustellen und so den Endtiter festzustellen.

Das von Eisenberg (5) beobachtete Vorkommen einer Hemmungszone bei Mitagglutination haben wir bei dem Serum eines Typhuskranken (Tabellen I und IV, 1475) gegenüber dem Bact. paratyphi B beobachtet (1:50 = + $1^1/_2$ h., 1:20 u. 1:100 = ± 5 h.).

In den Fällen, in denen genügend Serum vorhanden war, wurde auch die Reaktion mit dem eigenen, meist aus dem zugehörigen Blutkuchen gezüchteten Stamm angestellt. Die Resultate dieser Prüfung (vergl. Tab. I und II) sind: 1) Meist beeinflußt das Krankenserum seinen eigenen Stamm am höchsten und am schnellsten. 2) Ist noch keine Agglutinatton für andere Typhusstämme vorhanden, so fehlt sie auch meist für den eigenen Stamm. 3) Hemmungszonen sind bei dem eigenen Stamm nicht beobachtet worden. — In einem Falle — Tab. I, 1851 — war die Agglutination mit dem eigenen Stamm negativ bei zweimaliger Prüfung, während „Kiel“ und „Preetz“ reagierten. Hier handelte es sich um einen sehr schwer agglutinablen Typhusstamm, der auch durch

Tabelle IV.

Buchnummer (Krankheitstag)	Verschiedenartige Einwirkung von Krankenseren auf zwei verschiedene Typhusstämme: Stamm „Preetz"	Stamm „Kiel"
80 (?)	30 = ++ $\frac{3}{4}$ h. 50–200 = + $\frac{3}{4}$ h.	30—200 = 0 24 h.
78 (?)	30 u. 50 = ++ 2 h. 100 u. 200 = + 2 h.	30—200 = 0 24 h.
95 (14.)	30 = ++ 2 h. 50—200 = + 2 h.	30 = + 24 h. 50 u. 100 = + 4 h. 200 = 0 24 h.
02 (2.)	30 = ++ 2 h. 50—200 = + 2 h.	30—200 = 0 24 h.
13 (9.)	30 u. 50 = ++ 2 h. 100 u. 200 = + 2 h.	30 = + 24 h. 50—200 = 0 24 h.
16 (9.)	30 = ++ 2 h. 50 u. 100 = + 2 h. 200 = + 24 h.	30 = + 2 h. 50—200 = 0 24 h.
92 (4.?)	30 = ++ 2 h. 50—200 = + 2 h.	30—200 = 0 24 h.
93 (?)	30—200 = 0 24 h.	30—100 = + 2 h. 200 = + 24 h.
955 (?)	30 = + 24 h. 50 = + 2 h. 100 = ++ 2 h. 200—1000 = + 2 h.	30 = + 24 h. 50 u. 200 = + 2 h. 100 = ++ 2 h. 500 u. 1000 = 0 24 h.
1009 (16.)	30–200 = ++ $\frac{3}{4}$ h. 500—2000 = + 1 h.	30—50 = ++ $\frac{3}{4}$ h. 100—2000 = 0 24 h.
1139 (9.)	30 u. 50 = + 24 h. 100 = + 2 h. 200 = ± 2 h.	30 = + 1 h. 50 = ± 2 h. 100 u. 24 = + 24 h.
1312 (20.)	30 nicht gemacht 50—200 = + 2 h.	30 nicht gemacht 50—200 = 0 24 h.
1337 (7.)	30—50 = + $2\frac{1}{2}$ h. 100 u. 200 = + 24 h.	30—100 = + $2\frac{1}{2}$ h. 200 = + 24 h.
1367 (8.)	30—100 = + 2 h. 200 = ± 2 h.	30 = + 2 h. 50—200 = + 24 h.
1369 (?)	30—100 = + 2 h. 200 = + 24 h.	30—100 = + 24 h. 200 = 0 24 h.
1386 (12.)	30 = ± 4 h. 50 = ∓ 2 h. 100 u. 200 = + 4 h.	30 = ++ $1\frac{3}{4}$ h. 50—200 = + $1\frac{3}{4}$ h.
1388 (12.)	30 u. 50 = + $1\frac{3}{4}$ h. 100 u. 200 = + $2\frac{1}{2}$ h.	30—200 = + 24 h.
1467 (14.)	30–200 = + $1\frac{1}{2}$ h. 500 = + 6 h. 1000 = 0 24 h.	30 u. 50 = ++ $\frac{1}{2}$ h. 100—5000 = + $1\frac{1}{2}$ h.
1475 (16.)	30—200 = + 24 h.	30 = + 5 h. 50—200 = ++ 24 h.
1478 (10.)	30 u. 100 = + $3\frac{1}{2}$ h. 50 u. 200 = + 1 h.	30—100 = ++ u. + 1 h. 20 = + 24 h.
1492 (14.)	30 u. 50 = + 6 h. 100 u. 200 = + $3\frac{1}{2}$ h.	30 u. 200 = + 3 h. 50 u. 100 = + 2 h.
1549 (12.)	30—100 = + $1\frac{1}{2}$ h. 200 = + 6 h.	30 = + $1\frac{1}{2}$ h. 50—200 = + 24 h.
1550 (2.)	30 = + 6 h. 50–200 = + 24 h.	30—200 = + $1\frac{1}{2}$ h.
1639 (5.)	30—200 = + 4 h.	30 u. 50 = + 4 h. 100 u. 200 = ++ 24 h.
1652 (8.)	30 u. 50 = + 1 h. 100 = + $4\frac{1}{2}$ h. 200 = + 24 h.	30 u. 50 = + 1 h. 100 u. 200 = + 24 h.

Buchnummer (Krankheitstag)	Verschiedenartige Einwirkung von Krankenseren auf zwei verschiedene Typhusstämme: Stamm „Preetz"	Stamm „Kiel"
1655 (19.)	30—100 = + $1\frac{1}{4}$ h. 200—500 = + 4 h.	30—200 = + 1 h. 500 = 0 24 h.
1677 (12.)	30—100 = + $1\frac{1}{2}$ h. 200 = + 2 h.	30—100 = + 24 h. 200 = 0 24 h.
1730 (7.)	30—200 = + 6 h.	30—200 = + 1 h. 500 = + 2 h.
1731 (4.)	30 nicht gemacht 50 = + 24 h. 100 = 0 24 h. 200 = + 3 h.	30 nicht gemacht 50 u. 100 = + 3 h. 200 = + 24 h.
1758 (13.)	30 nicht gemacht 50—200 = + 3 h.	30 nicht gemacht 50 = + 3 h. 100 u. 200 = + u. 0 24 h.
1824 (7.)	30—200 = + 24 h.	30 u. 50 = + 2 h. 100 u. 200 = + 4 h.
1893 (?)	30 = +++ 2 h. 50—200 = ++ 2 h. 500 = + 2 h.	30 = ++ 2 h. 50 u. 100 = + 2 h. 200 = ± 2 h. = + 4 h.
1957 (?)	30 = + 3 h. 50 u. 100 = ++ 24 h. 200 = 0 24 h.	30 u. 50 = ++ u. + 1 h. 100 = ± 2 h. 200 = ∓ 24 h.
1958 (7.)	50 u. 100 = ++ 24 h. 30 u. 200 nicht gemacht	50 u. 100 = ++ u. + 1 h. 30 u. 200 nicht gemacht
1986 (14.)	30 u. 50 = + 2 h. 100 u. 200 = + 24 h.	30 u. 50 = ++ 2 h. 100 u. 200 = + 2 h.
2019 (?)	30 = ++ 3 h. 50 = + 3 h. 100 u. 200 = + 24 h.	30 = ++ 24 h. 50—200 = 0 24 h.
2027 (7.)	30 = ++ 3 h. 50—200 = + 3 h.	30 u. 50 = + 24 h. 100 u. 200 = 0 24 h.
1963 (25.)	30 = + $1\frac{1}{4}$ h. 50 = 0 24 h. 100 u. 200 = + 2 h.	30 = ++ $1\frac{1}{4}$ h. 50 = + 4 h. 100 u. 200 = + 24 h.
2136 (16.)	50 u. 100 = + 24 h. 30 u. 200 nicht gemacht	50 u. 100 = ++ $\frac{3}{4}$ h. 30 u. 200 nicht gemacht
1942 (36.)	30 = + 2 h. 50—200 = 0 24 h.	30 u. 50 = ++ 1 h. 100 u. 200 = + 1 h.
2745 (3.)	30 = + 2 h. 50 u. 100 = + 4 h. 200 = + 24 h.	30 u. 50 = + 2 h. 100 = + 24 h. 200 = + 4 h.
2806 (21.)	30—200 = + 2 h.	30 = + 24 h. 50 = + 2 h. 100 u. 200 = 0 24 h.
2821 (7.)	30 = ++ 2 h. 50 u. 100 = + 2 h. 200 = 0 24 h.	30 u. 50 = ++ u. + 2 h. 100 u. 200 = 0 24 h.
2851 (22.)	30 = ++ $1\frac{1}{2}$ h. 50—200 — + $1\frac{1}{2}$ h. 500 + 2 h.	30 u. 50 = ++ $1\frac{1}{2}$ h. 100 u. 200 = + $1\frac{1}{2}$ h. 500 = 0 24 h.
3085 (6.)	30—100 = ++ 2 h. 200 = + 2 h.	30—100 = + 2 h. 200 = 24 h.
3103 (2.)	30 u. 50 = + 24 h. 100 = + 2 h. 200 = 0 24 h.	30 = + 24 h. 50—200 = 0 24 h.
3116 (5.)	30 = + 2 h. 50—200 = ++ 2 h. 500—1000 = + 2 h.	30 = +++ 2 h. 50—500 = ++ 2 h. 1000 = + 24 h.

Anmerk.: Die Zahlen 30, 50, 100 u. s. w. bedeuten die Verdünnungen 1 : 30, 1 : 50, 1 : 100 u. s. w., 1 h., 2 h. u. s. w. gibt die Zeit an, nach der die Agglutination positiv war.

Verschiedenartige Einwirkung von Krankenseren auf zwei verschiedene Typhusstämme und den eigenen Stamm

Buchnummer (Krankheitstag)	Stamm „Preetz“	Stamm „Kiel“	Eigener Stamm
1204 (10.)	30 = ± 2 h. 50—200 = + 24 h.	30—100 = + 2 h. 200 = + 24 h.	30—100 = + 2 h. 200 = + 2½ h.
1492 (14.)	30 u. 50 = + 6 h. 100 u. 200 = + 3 h.	30 u. 200 = + 3 h. 50 u. 100 = + 2 h.	30—500 = + 4 h.
1636 (9.)	30, 50 u. 200 = + 4 h. 100 = ++ 4 h.	30 = + 4 h. 50—200 = + 24 h.	30—200 = + 4 h.
1680 (17.)	30—200 = ++ 3 h. 500 u. 100 = + 4 h.	30—200 = ++ 3 h. 500 = + 4 h. 1000 = 0 24 h.	30—500 = + 3 h.
1684 (8.)	30—200 = + 2½ h.	30—200 = + 24 h.	30 = ++ 2 h. 50—200 = + 3 h.
1722 (6.)	30—100 = + 1 h. 200 = 0 24 h.	30—100 = + 1 h. 200 = 0 24 h.	30—200 = ++ 2 h. 500 = + 2 h.
1735 (21.)	30 u. 50 = + 2 h. 100 = 0 24 h. 200 = + 24 h.	30—200 = + 24 h.	30—200 = + 2 h.
1781 (14.)	30 = 0 24 h. 50 = + 2 h. 100 u. 200 = ++ u. + 24 h.	30 u. 100 = ++ 2 h. 50 = + 2 h. 200 = + 3 h.	30, 50 u. 200 = ++ 2 h. 100 = +++ 2 h.
1797 (10.)	30 = ± 2 h. 50 = ∓ 2 h. 100 u. 200 0 24 h.	30, 50 u. 200 = + 2 h. 100 = ++ 2 h.	30 = + 2 h. 50—200 = + 2 h.
1851 (14.)	30 u. 50 = + u. ± 2 h. 100 u. 200 = + u. 0 24 h.	30 u. 50 = ++ u. + 2 h. 100 = ± 2 h. 200 = ∓ 24 h.	30—200 = 0 24 h. (zweimal gemacht)
1921 (6.)	30—200 = + 2 h.	30 u. 50 = ++ ½ h. 100 = + 2 h. 200 = + 4 h.	30—500 = + 2 h.
1928 (14.)	30 u. 50 = ++ 4 h. 100 u. 200 = + 4 h.	30 u. 50 = ++ u. + 2 h. 100 u. 200 = + u. ± 4 h.	30 u. 50 = ++ 2 h. 100 u. 200 = + 2 h.
1982 (9.)	30 u. 50 = + 1 h. 100 u. 200 = + 24 h.	30 u. 50 = ++ 1 h. 100 u. 200 = + 1 h. 500 = + 24 h.	30—200 = ++ 2 h. 500 = + 24 h.
2073 (40.)	30—500 = ++ u. + 2 h. 1000 = + 2 h. 2000 = 0 24 h.	30—500 = +++ u. ++ 2 h. 1000 = 0 24 h.	30—500 = +++ 2 h. 1000 u. 2000 = + 2 h.
2086 (9.)	30 u. 50 = ++ u. + 1 h. 100 u. 200 = ++ 6 h.	30—100 = ++ 1 h. 200 = + 1 h. 500 = + 3 h.	30—200 = ++ 2 h. 500 = + 2 h.
2089 (14.)	30 = + 1 h. 50 = + 4 h. 100 u. 200 = + 6 h.	30 u. 50 = ++ 1 h. 100 u. 200 = 1 h. 500 = 0 24 h.	30—50 = ++ 2 h. 100 u. 200 = + 2 h.
2499 (8.)	30 = + 2 h. 50—200 = + 4 h.	30 u. 50 = ++ u. + 2 h. 100 u. 200 = + 4 h.	30—200 = + 3 h.
2341 (10.)	30 u. 50 = + 2 h. 100 u. 200 = + 4 h.	30—100 = + 2 h. 200 = + 24 h.	30—200 = + 2 h.
2348 (21.)	30 u. 50 = ++ u. + 2 h. 100 u. 200 = + u. ++ 4 h.	30 u. 50 = + u. ++ ½ h. 100 = + 4 h. 200 = + 24 h.	30—200 = + 4 h.
2508 (5.)	30 u. 50 = + 2 h. 100 u. 200 = + 24 h.	30 = + 2 h. 50 u. 100 = + 24 h.	30—100 = + 2 h. 200 = + 4 h.
2259 (35.)	30—100 = ++ u. + 2 h. 200 = + 4 h.	30 = + 2 h. 50 = ++ 4 h. 100 u. 200 = + 4 h.	30 u. 50 = ++ 2 h. 100 u. 200 = + 2 h.
2674 (8.)	30 = + 1 h. 50—200 = + 3 h.	30, 50 u. 100 = ++ u. + 1 h. 200 = + 3 h.	30—200 = + 2 h. 200 = + 4 h.

Buchnummer (Krankheitstag)	Verschiedenartige Einwirkung von Krankenseren auf zwei verschiedene Typhusstämme und den eigenen Stamm		
	Stamm „Preetz“	Stamm „Kiel“	Eigener Stamm
2973 (9.)	30 u. 50 = + 1 h. 100 u. 200 = + 6 h.	30, 50 u. 100 = + + u. + 1 h. 200 = 0 24 h.	30—100 = + 2 h. 200 = + 4 h.
3026 (4.)	30, 50—200 = + + u. + 2 h. 500—1000 = + 4 h.	30—200 = + + 2 h. 500—1000 = + 2 h.	30—200 = + + 2 h. 500—1000 = + 2 h.
3128 (3.)	30 = + 2 h. 50—200 = + 24 h.	30 u. 50 = + + 2 h. 100 u. 200 = + 2 h.	30—100 = + + 2 h. 200 = + 2 h.
3143 (2.)	30 u. 50 = + 2 h. 100 u. 200 = + 24 h.	30—100 = + + 2 h. 200 = + 2 h.	30—100 = + + 2 h. 200 = + 2 h.
3154 (17.)	30 u. 50 = + + 5 h. 100 u. 200 = + 5 h.	30 u. 50 = + + u. + 1 h. 100 u. 200 = + + u. + 5 h.	30 u. 50 = + + 5 h. 100 u. 200 = + 5 h.
1510 (14.)	30 u. 50 = + 2 h. 100 = + 3½ h. 200 = + 24 h.	30 = + 2 h. 50 u. 100 = + 3½ h. 200 = + 24 h.	30 u. 50 = + ½ h. 100 u. 200 = 0 24 h.

Typhusziegenserum erst nach zweimaliger Umzüchtung beeinflußt wurde: (Typhusziegenserum Titer 1 : 20000. I. Prüfung 1 : 100 bis 1 : 20000 = 0; II. Prüfung 1 : 100 u. 1 : 200 = +; III. Prüfung 1 : 100 bis 1 : 20000 = +; eig. Serum: 1 : 30 bis 1 : 200 = 0 zweimal).

Bei 6 Fällen hatten die Aerzte schon vor der Einsendung von dem Fickerschen Diagnostikum Gebrauch gemacht, darunter 3mal ohne Erfolg. Bei uns war bei Anwendung zweier Stämme der Widal stets positiv. Einer dieser Fälle (Tab. I, 455) war für uns mit Veranlassung, die Benutzung zweier Typhusstämme einzuführen.

Aus den erwähnten Untersuchungen von Friedberger und Moreschi (11) und aus unseren jene bestätigenden Serumprüfungen ergibt sich, daß der jüngst von Jürgens (15) ausgesprochene Satz, „daß ein den Typhusbacillus agglutinierendes Serum in der Regel jeden Typhusstamm agglutiniert“, doch sehr der Einschränkung bedarf. Mit jenen Autoren nehmen auch wir an, daß ein Unterschied im Rezeptorenapparat von Typhusstämmen besteht, sodaß man zwischen agglutininbindenden und -bildenden Gruppen zu unterscheiden hat.

Im besonderen sollen unsere Versuche zeigen, was die Methode für die Praxis leistet, und das erhellt aus folgender Berechnung: Im Institut sind mit 2 Stämmen geprüft worden 197 Proben von 183 bakteriologisch gesicherten oder klinisch ausgesprochenen Typhusfällen. Davon agglutinierten bis 1 : 100 oder höher 125 Proben; bei 34 von diesen war auch die Züchtung positiv. Bis 1 : 50 agglutinierten 14, darunter 4 mit positiver Züchtung. Bis 1 : 30 agglutinierten 6, unter denen aus einer Probe gezüchtet wurde. Nicht agglutinierten (1 : 30 = 0 in 2 Stunden) 52, wovon aber 17 durch Züchtung sichergestellt wurden. Demnach wurde durch Agglutination bis 1 : 100 resp. durch Züchtung die Diagnose als gesichert angesehen in 147 = ca. 75 Proz. aller Proben; eine Wahrscheinlichkeitsdiagnose (1 : 50 oder 1 : 30 positiv) ergab sich nach 2 Stunden Beobachtung in 15 weiteren Fällen. Von den 29 Blutproben der Tabelle III agglutinierte 1 Serum (1639), „Preetz“ bis 1 : 200 nach 6 Stunden, und 4 Proben (Tab. III: 1576; 2728; 2968; 3007), die nach 2 Stunden nicht agglutiniert hatten, taten dies nach 4—6 Stunden bis 1 : 50 bezw. 1 : 100, konnten also noch als wahrscheinlich betrachtet werden. Rechnen wir also jenen 147 und 15 Blutproben noch diese 5, bei denen die Dia-

gnose auch noch nachträglich als sicher bezw. wahrscheinlich zu betrachten war, hinzu, so kommen wir auf rund 85 Proz. positive Resultate durch gleichzeitige Benutzung der Blutprobe zur Züchtung und Agglutination.

Bei Anwendung von „Preetz" allein wäre davon in 5 Fällen der Widal völlig negativ geblieben, in weiteren 18 Fällen hätte er die Diagnose nur wahrscheinlich gemacht (1 : 50 positiv). Mit „Kiel" allein wären 13 Prüfungen negativ geblieben und 14 nur bis zu 1 : 50 positiv ausgefallen. Also in 23 bezw. 27 Fällen Sicherung der Diagnose durch den 2. Typhusstamm. Mit „Preetz" allein hätten wir also 3 Proz., mit „Kiel" allein 6 Proz. der positiven Agglutinationen nicht feststellen können. Man könnte vermuten, daß sich Fälle der gleichen Herkunft einem Stamme gegenüber immer gleich verhalten würden. Wir fanden aber bei 11 Blutproben einer Epidemie in F. 4mal stärkere Beeinflussung von „Preetz", 4mal von „Kiel", 3mal beide gleich; bei 28 Blutproben aus R. 7mal „Preetz" stärker positiv, 7mal „Kiel", 14mal beide gleich. Eine Gesetzmäßigkeit im Verhalten von Seren den beiden Stämmen gegenüber hat sich also nicht feststellen lassen.

Aus dem Gesagten ergibt sich für die Praxis die Forderung, 2 oder mehr Typhusstämme zur Agglutinationsprüfung des Krankenserums zu verwenden. Dies ist für die Diagnose wichtiger, als je 1 Typhus- und Paratyphus A-Stamm zu nehmen. Wo es sich wegen Serummangels nicht durchführen läßt, dürfte es sich empfehlen, eine Mischung verschiedener Typhusstämme anzuwenden, was sich mit dem angegebenen Pipettierglase leicht bewerkstelligen läßt. Derartige Prüfungen sind gegenwärtig noch im Gange.

Wie schon mehrfach beschrieben [Jürgens (13, 14); Fischer (9), p. 104, Sonderabdr. p. 44], agglutiniert das Serum von Typhuskranken besonders im Beginn der Krankheit gar nicht selten die Paratyphusbakterien stärker als die Typhusbakterien. Eine höhere oder doch fast ebenso hohe Mitagglutination der Typhusbakterien dagegen bei Paratyphuserkrankungen, die uns bisher noch nicht begegnet war, fand sich bei folgenden 4 Paratyphusfällen der Tabelle II: 343 (Ty 1 : 200, Para B 1 : 100); 345 (Ty 1 : 100, Para B 1 : 200); 706 (Ty „Preetz" 1 : 1000, Ty „Kiel" 1 : 2000, Para B 1 : 1000, eign. Stamm 1 : 3000); 707 (Ty 1 : 200, Para B 1 : 100). — Bei den 2 durch die Züchtung als Paratyphus erkannten Fällen Tabelle II 751 und 1778 agglutinierte das Serum weder Typhus- noch Paratyphusbakterien.

Der Stamm 706 war auch dadurch bemerkenswert, daß er von einem Typhusserum, welches Typhusbakterien bis zu einer Verdünnung von 1 : 25000 agglutinierte, noch bei 1 : 5000 beeinflußt wurde (Tabelle V); eine gleich starke Agglutination durch dieses Typhusserum zeigte der Stamm 483, während die Stämme 756, 620 und 2216 (Tabelle V) gleichfalls von diesem Typhusserum, aber nur in einer Verdünnung von 1 : 1000 agglutiniert wurden. Eine Mitagglutination der Paratyphusbakterien durch Typhusimmunserum ist schon mehrfach, z. B. von Schottmüller (21), Bruns und Kayser (1), Lipschütz (17) beschrieben, indes blieb sie hinter der bei unseren Stämmen 706 und 756 weit zurück.

Die Stämme 483, 706, 756 hatten untereinander das gemein, daß sie durch unsere Paratyphusseren anfänglich weit schwächer agglutiniert wurden, als die zur Gewinnung des Serums verwandten Paratyphusstämme; nach mehrfacher Umzüchtung wurden sie aber schließlich

in gleichem Maße agglutiniert wie diese. Auch beim Typhus hat man bekanntlich in gleicher Weise beobachtet, daß die frisch isolierten Typhusstämme weniger gut agglutiniert wurden, als die fortgezüchteten.

Tabelle V.

Stamm	Serum (Titer)						
	Typhus (25000)	Paraty. B. polyvalent (2000)	Paraty. B monovalent (2000)	Paraty. A monovalent (10000)	Enteritis „Känsche“ Stamm Futterkamp polyvalent (20000)	Enteritis „Känsche“ Stamm Futterkamp monovalent (2000)	Enteritis „Gärtner“ (1000)
483 Rendsburg	5000	1000	2000	0	5000	2000	0
706 Sonderburg	5000	1000	2000	0	5000	2000	0
756 Stade	1000	1000	2000	0	500	500	0
620 Flensburg	1000	1000	200	0	20000	2000	0
2216 Kiel	1000	1000	200	0	20000	2000	0

Die beiden Kranken 483 und 706 boten die Erscheinungen eines leichten Typhus dar. Die Agglutination war bei 483 am 14. Krankheitstage für Typhus- und Paratyphusbakterien negativ, bei 706 für „Preetz“ 1000, „Kiel“ 2000, Paratyphus B 1000, eign. Stamm 3000. Beide Male ging die Krankheit in Genesung über. Epidemiologisch ist für 483 noch von Wichtigkeit das gleichzeitige Vorkommen eines analogen Krankheitsfalles in derselben Straße und das spätere Auftreten von 3 durch Züchtung als einwandfreie Paratyphen erkannten Erkrankungen im selben Hause.

Fall 756, eine Puerpera betreffend, bot das Bild einer Sepsis und verlief tödlich. Die Züchtung der Erreger gelang aus dem Blut; leider war weiteres Material nicht zu erhalten; Sektion wurde nicht gemacht. Die Agglutination war für Typhus- und Paratyphusbakterien negativ, für den eigenen Stamm bis 1:200 positiv (analog den Typhusseren Tabelle I: 1530, 1601, 1708, 1816, 2932, 3060).

Nach dem Ergebnisse der Agglutination dachten wir anfangs, daß es sich bei diesen 3 Fällen um durch Typhusbakterien veranlaßte Infektionen handelte. Wir mußten indes diese Vermutung weiterhin aufgeben, weil die isolierten Erreger alle für die Paratyphusbakterien charakteristischen Wachstumsmerkmale darboten, und, wie schon erwähnt, schließlich von unserem hochwertigen Paratyphusserum in gleichem Maße agglutiniert wurden, wie unsere Paratyphusbakterien. Auch beeinflußte das mit den Stämmen 483 und 756 von Kaninchen erlangte Serum in gleicher oder doch annähernd gleicher Weise verschiedene Paratyphusstämme wie diese drei (vergl. Tab. VI, 483, 706, 756), von denen noch hervorzuheben wäre, daß sie sich bei Tierversuchen als außerordentlich virulent erwiesen, insofern $^1/_{1000}$ Oese für Meerschweinchen, $^1/_{100}$ Oese für Mäuse bei Injektion die tödliche Dosis bildete. Auch 10 zur Immunisierung verwandte Kaninchen starben; dagegen gelang es nicht, Mäuse durch Fütterung zu infizieren. Bemerkenswert bleibt aber bei diesen Stämmen immer noch, daß sie durch Typhusserum in so hohem Maße beeinflußt wurden und daß bei 706 das Serum des Kranken Typhusbakterien in weit stärkerem Maße agglutinierte, als es sonst bei Paratyphusinfektionen der Fall zu sein scheint.

Von den Stämmen 620 und 2216, die gleichfalls in höherem Maße durch Typhusserum beeinflußt wurden, glaubten wir anfangs annehmen zu dürfen, daß es sich um neue bisher noch nicht beschriebene Arten von Paratyphusbakterien handele, zumal sie von unserem Paratyphusserum nur in der 2- bezw. 10-fachen Konzentration agglutiniert

wurden (Tab. V); während wir bei weiteren Untersuchungen mehr und mehr zu der Ueberzeugung kamen, daß sie nicht mit den Paratyphusbakterien, sondern mit dem Typus „Känsche (Breslau)" der Enteritisbakterien übereinstimmten.

Tabelle VI.

Kaninchenserum, gewonnen mit Stamm 483.

Stamm	100	200	500	1000	2000	5000
483	+++	+++	+++ 5 Min.	++	+	+ 2 h.
706	+++	+++	++ 5 Min.	++	+	+ 2 h.
756	+++	+++	+ 5 Min.	++	+	+ 2 h.
620	++	+	± ?	0	0	0
2216	++	+	± ?	0	0	0
Typhus	0	0	0	0	0	0
Paratyphus B	+++	+++	++ 5 Min.	++	+	+ 2 h.
Paratyphus A	0	0	0	0	0	0
Enteritis „Känsche" Stamm Futterkamp	+++	+++	++ 5 Min.	+ 2 h	± ? 2 h.	0
Kaninchenserum, gewonnen mit Stamm 756.						
756	+++	+++ 5 Min.	+++	++	++	+ 2 h.
706	+++	+++ 5 Min.	++	+	+ 2 h.	0
483	+++	+++ 5 Min.	++	+	+ 2 h.	0
620	++	+	+ 2 h.			
2216	++	+	± 2 h.			
Typhus	0	0	0	0	0	0
Paratyphus B	+++	+++	+++ 5 Min.	++	++	+ 2 h.
Paratyphus A	0	0	0	0	0	0
Enteritis „Känsche" Stamm Futterkamp	+++	++	++	0	0	0

Der Patient 620 erkrankte plötzlich mit Schüttelfrost und pneumonischen Erscheinungen. Zuerst geringer Status typhosus und mäßige Milzschwellung. Keine Roseolen, kein ausgesprochenes Ileocöcalgurren, keine Darmblutung, vorübergehend leichte Diarrhöe; am 9. Tage kritischer Fieberabfall. Danach glatte Heilung und Entlassung am 17. Krankheitstage. — Vor $1^1/_2$ Jahren typhusähnliche Erkrankung. — Am 3. Krankheitstage Agglutination: B. typhi „Kiel" 200, B. paratyphi B 30, eigener Stamm 100.

Fall 2216 betraf einen 49-jährigen Arbeiter, der in der Nacht vom 8. zum 9. Okt. 1906 ohne Prodromalerscheinungen an Durchfall, Erbrechen, Brust- und Leibschmerzen erkrankte. In den nächsten Tagen noch wiederholtes Erbrechen, Heiserkeit, Husten, reichliche diarrhöische Stühle, diffuse Leibschmerzen. Höchsttemperatur 38,5° im Rectum. Am 10. Tage geheilt entlassen. Die Agglutination war am 3. und 8. Krankheitstage für „Preetz", „Kiel", Paratyphusbakterien Typus A und B völlig negativ, für Stamm 620 sowie den eigenen (2216) bis 1 : 50 positiv. — Am 3. Tage Züchtung aus Blut; am 9. und 10. Tage Züchtung aus Stuhl.

Diese Stämme 620 und 2216 stimmen unter sich überein. Sie unterschieden sich von dem B. paratyphi B schon dadurch, daß sie auf Gelatine nicht das für B. paratyphi B charakteristische saftig-schleimige Wachstum zeigten, und auch auf der Schräggelatine ein Herabrutschen der Kulturmassen nie stattfand. Auf Gelatineplatten entsprachen die Kolonieen im allgemeinen denen der Typhusbakterien, doch fanden sich bei 2216 neben typhusartigen Kolonieen auch zuweilen solche, an denen die Aderung fehlte und statt dessen eine feine Körnung zu beobachten war. Auf Drigalski-Agar sowie auf Malachitgrünagar wurde an älteren Kolonieen nie die Bildung eines Randwulstes, wie er nach unseren Erfahrungen für B. paratyphi B charakteristisch ist, gesehen. Im übrigen boten die Kulturen das den Bakterien der Enteritisgruppe eigentümliche Verhalten (vergl. B. Fischer [9] p. 78. Sonderabdr. p. 18). — An den lebhaft beweglichen gramnegativen Stäbchen von der Größe

des B. typhi wurden bei der Färbung nach Zettnow 6—8 peritriche Geißeln gefunden. — Die Uebereinstimmung mit dem Typus „Känsche“ trat nicht nur in den Kulturen hervor, sondern auch bei der Agglutinationsprüfung. Die mit dem Erreger der Futterkamper Epidemie von Ziegen erlangten Sera agglutinierten die Stämme 620 und 2216 bis zum Endtiter (Tab. V). Ein mit dem Stamm 620 von Kaninchen gewonnenes Serum agglutinierte die Stämme 620 und 2216 in Verdünnungen bis zu 20000, den Erreger der Futterkamper Epidemie noch in der Verdünnung von 1:10000, das B. paratyphi B dagegen ebenso wie die Stämme 483, 706 und 756 erst in der Verdünnung 1:5000 (Tab. VII).

Tabelle VII.
Ziegenserum gewonnen mit Stamm 620.

Stamm	Verdünnung 100	200	500	1000	2000	5000	10000	20000
620	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+ 1½ h.
2216	+++	+++	+++	++	++	++	++1½ h.	+ 2 h.
Enteritis „Känsche“ Stamm Futterkamp	+++	+++	+++	++	++	+	+ 2 h.	0
483	+++	+++	++	++	±	± 2 h.	0	0
706	+++	+++	++	++	±	± 2 h.	0	0
756	+++	+++	++	++	±	± 2 h.	0	0
Paratyphus B	+++	+++	++	++	±	± 2 h.	0	0
Typhus	+ 2 h.	0	0	0	0	0	0	0
Paratyphus A	0	0	0	0	0	0	0	0

Nicht unerwähnt soll dabei bleiben, daß von einigen Autoren, wie Trautmann (22) und Schottmüller (21) die Enteritisbakterien vom Typus „Känsche“ mit dem Bact. paratyphi B als identisch betrachtet werden. Nach den im Kieler hygienischen Institut gemachten Erfahrungen können wir dieser Ansicht nicht beistimmen; denn Enteritisbakterien wurden hier nur aus Fällen isoliert, die ohne Prodromalerscheinungen und unter dem Bilde des Brechdurchfalls verliefen, nie aus Fällen, die das Bild eines Typhus darboten. Die hervorgehobenen Unterschiede im Wachstum der Paratyphus- und Enteritisbakterien haben wir stets beobachtet. Ferner wurden durch Fütterung mit Enteritisbakterien Mäuse jedesmal infiziert, während dies bei Paratyphusbakterien nur ausnahmsweise gelang (B. Fischer [9] p. 80. Sonderabdr. p. 20).

Fall 2216 bietet auch klinisch das Bild eines Brechdurchfalls dar, wie es nach Fleischvergiftungen beobachtet wird. — Dagegen vermissen wir bei dem Fall 620 ausgesprochene Erscheinungen des Brechdurchfalls. Hier verliert sich die Benommenheit bald, und wir erfuhren nachträglich, daß die Durchfälle auf die gereichten Arzneien bezogen wurden und schon vom 2. Tage an das ausgesprochene Bild einer Pneumonie vorlag. — Daß die Enteritisbakterien hier die Erreger der Pneumonie gewesen sein sollten, ist nicht sehr wahrscheinlich, weil Typhus- und Paratyphusbakterien als Erreger einer typischen krupösen Pneumonie bisher nicht bekannt geworden sind; indes ist eine solche Annahme doch auch nicht mit aller Sicherheit auszuschließen. Sobald man von der Ansicht ausgeht, daß die Enteritisbakterien zu der Pneumonie nicht in ursächlicher Beziehung gestanden haben, bleibt nur die Annahme übrig, daß eine Mischinfektion von Pneumonie und Brechdurchfall vorgelegen hat; die vom behandelnden Arzte auf die Arznei bezogenen Durchfälle würde man dann als ein Zeichen der gleichzeitig vorhandenen Gastroenteritis aufzufassen haben; daß das Serum des Kranken am 3. Tage

Typhusbakterien in der Verdünnung von 1 : 200 agglutinierte, darf wohl auf die vor $1^1/_2$ Jahren überstandene Typhusinfektion bezogen werden.

Die Stämme 620 und 2216 erwiesen sich als pathogen für Meerschweinchen, Kaninchen, weiße und graue Mäuse und Ratten, dagegen nicht für Hühner. Meerschweinchen von 250 g starben stets noch nach $^1/_{100}$ Oese intraperitoneal; einmal tötete $^1/_{1000}$ Oese nach 13 Tagen. Subkutan töteten noch $^2/_5$ Oesen nach mehreren Tagen; bei einem Tier mit völlig verklebten Augen gelang der Nachweis der Erreger im Konjunktivaleiter in Reinkultur. 5 und 4 ccm keimfreien Bouillonkulturfiltrates subkutan, 3 ccm intraperitoneal töteten Meerschweinchen innerhalb 20 Stunden: blutiger Ascites, starke Injektion der Därme, Leber anämisch, Organe keimfrei. 2 ccm wirkten nicht tödlich. In ähnlicher Weise wirkten durch Chloroform abgetötete Agarkulturen letal. — Mäuse starben, wenn ihnen subkutan $^1/_{100}$ oder $^1/_{200}$ Oese intraperitoneal eingespritzt wurde. Auch gingen die Mäuse nach Fütterung mit Kulturen regelmäßig innerhalb 7—10 Tagen ein, schon nach 2—3 Tagen sah man verklebte Augen, gesträubte Haare und Durchfall. Erreger in den Organen nachgewiesen. — Kaninchen starben nach intravenöser Injektion von $^1/_{10}$ Oese; auch bei subkutaner Einspritzung abgetöteter Kulturen starben uns alle 5 Immunisierungskaninchen, so daß so die Gewinnung eines hochwertigen Serums mißlang. — Ratten starben nach Einspritzung von $^1/_5$ Oese intraperitoneal.

Zusammenfassung.

Die Züchtung der Erreger aus dem Blutkuchen ermöglichte in einer nicht unerheblichen Zahl von Fällen die Diagnose, wo die Agglutination mit dem Krankenserum oder die Züchtung aus den Entleerungen versagten. Auch ermöglichte die Aussaat des Blutkuchens die Diagnose von Mischinfektionen bei Typhus und die Diagnose anderer Bakteriämieen, welche zum Teil bei der Typhusdifferentialdiagnose in Frage kommen.

Die Züchtung der Erreger aus dem Blutkuchen gestattete schneller und einfacher die Diagnose als die Züchtung aus den Ausscheidungen; sie weist bei positivem Ausfall auf das Bestehen einer Typhusinfektion hin, während der Nachweis der Erreger im Stuhle an sich nicht eine vorliegende Infektion beweist.

Die Resultate der Agglutination mit dem Krankenserum lassen sich verbessern, wenn man an 2 verschiedenen Typhusstämmen (event. einer Mischung derselben) prüft, wenn man die Beobachtungszeit nicht auf 2 Stunden beschränkt und wenn man nicht bloß die niedrigste Verdünnung, sondern gleichzeitig mehrere ansetzt, damit eine Täuschung durch Hemmungszonen vermieden wird.

Die Züchtung und Agglutination zusammen gestatteten uns, unter 197 Typhusblutproben in 75 Proz. die Diagnose als gesichert zu betrachten (Züchtung positiv, Agglutination 1 : 100 positiv), in weiteren 10 Proz. dieselbe als wahrscheinlich zu bezeichnen (Agglutination 1 : 50 oder 1 : 30 positiv), also insgesamt in rund 85 Proz. eine Diagnose zu stellen.

Früher verlangte das Institut zur Stellung der bakteriologischen Typhusdiagnose die Einsendung von Blut sowohl wie Stuhl und Urin. — Jetzt aber begnügen wir uns zunächst mit der Blutprobe allein, nur wo sie versagt, wird nochmals Blut nebst Stuhl und Urin erbeten. Daraus ergibt sich eine beträchtliche Vereinfachung für den Betrieb des Untersuchungsamtes.

Seit Januar 1906 hat jeder Arzt unseres Bezirkes folgende Anleitung im Besitz: „Soll die Diagnose Unterleibstyphus gestellt oder bestätigt werden, so ist so früh als möglich eine Blutprobe zur Anlegung von Kulturen und zur Agglutinationsprüfung einzusenden. Ist die Erlangung einer Blutprobe ausgeschlossen, so ist eine Stuhl- und eine Urinprobe und, wo vorhanden, auch Auswurf einzusenden. — Zur Feststellung des Zeitpunktes, von welchem ab bei genesenen oder gesunden Bacillenträgern Isolierung und Desinfektion aufhören können, sind Stuhl- und Urinproben, event. auch Auswurf einzusenden."

Literatur.

1) Bruns, H. und Kayser, H., Ueber die Verwertbarkeit des Agglutinationsphänomens zur klinischen Diagnose und zur Identifizierung von Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe (Paratyphus u. s. w.) (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. p. 401.)
2) Conradi, v. Drigalski und Jürgens, Ueber eine unter dem Bild des Typhus verlaufende, durch einen besonderen Erreger bedingte Epidemie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903. p. 141.)
3) Conradi, H., Ein Verfahren zum Nachweis der Typhuserreger im Blut. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 2. p. 58.)
4) — —, Zur bakteriologischen Frühdiagnose des Typhus. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 49. p. 2386.)
5) Eisenberg, Ph., Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. II. Teil. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 358.)
6) Eppenstein und Korte, Ueber das Verhalten der im Blute der Typhuskranken nachweisbaren Typhusbacillen gegenüber der bakteriziden Wirkung des Blutes. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 24. p. 1149.)
7) Fischer, B., Zur Aetiologie der sogenannten Fleischvergiftungen. (Zeischr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902. p. 447.)
8) — —, Zur Epidemiologie des Paratyphus. (Festschrift für Rob. Koch. Jena 1903. p. 288.)
9) — —, Untersuchungen über den Unterleibstyphus in Schleswig-Holstein. (Klin. Jahrb. Bd. XV. 1905. Heft 1. p. 61.)
10) Fornet, Ein Beitrag zur Züchtung von Typhusbacillen aus dem Blut. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 22. p. 1053.)
11) Friedberger, E. und Moreschi, C., Ueber Rassendifferenzen von Typhusstämmen. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 45. p. 1409.)
12) Gräf, Heinr., Zur bakteriologischen Typhusdiagnose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIV. 1906. p. 201 u. 202.)
13) Jürgens, G., Beobachtungen über die Widalsche Reaktion und die Mitagglutination der Typhoidbacillen. (Zeischr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. p. 372.)
14) — —, Zur ätiologischen Diagnose des Abdominaltyphus. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 34. p. 1233.)
15) — —, Ueber typhusähnliche Erkrankungen. (Ibid. 1907. No. 2. p. 59.)
16) Kayser, Heinr., Ueber die einfache Gallenröhre als Anreicherungsmittel und Bakteriologie des Blutes bei Typhus sowie Paratyphus. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 17. p. 823.)
17) Lipschütz, B., Ueber die bakteriologische Diagnose des Typhus abdominalis mit Hilfe des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens und der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1904. p. 798.)
18) Müller, Rein. und Gräf, Heinr., Nachweis von Typhusbakterien in eingesandten Blutproben. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2. p. 69.)
19) Müller, Reiner, Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. Beiheft. p. 58 u. 59.)
20) Paltauf, R., „Die Agglutination". (Handbuch von Kolle-Wassermann. Bd. IV. p. 753.)
21) Schottmüller, H., Zur Aetiologie der akuten Gastroenteritis (Cholera nostras). (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 7 u. 8. p. 294 u. 349.)
22) Trautmann, H., Wie verhalten sich die klinischen Affektionen: Fleischvergiftung und Paratyphus zueinander? (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. 1904. p. 71.)

Die Wohnungsdesinfektion mit Formaldehydpräparaten, im besonderen Autan.

[Aus dem hyg.-bakteriologischen Institut der Universität Bern (Direktor: Prof. Dr. W. Kolle).]

Von Dr. **E. Tomarkin** und Privatdozent Dr. **O. Heller.**

Der erste Teil unserer Untersuchungen, die sich hauptsächlich auf die Feststellung des desinfektorischen Effekts verschiedener Formaldehyddesinfektionsverfahren in Wohnräumen beziehen, wurde in gekürzter Form in der Deutsch. med. Wochenschr. vom 7. Febr. 1907 veröffentlicht. An dieser Stelle sollen die gesamten Untersuchungen mit ausführlichen Belegen wiedergegeben werden, namentlich wie sie späterhin unter anderem ihre Ergänzung fanden mit Bezug auf das Studium der Verhältnisse der relativen Feuchtigkeit innerhalb der mit Autan desinfizierten Räume und der Desinfektion von kleinsten und relativ kleinen und beschränkten Räumen, wie Schränken, ferner von Straßen- und Eisenbahnwagen u. s. w.

Seit den grundlegenden Arbeiten von Flügge und den Untersuchungen von Rubner, Peerenboom u. A. nimmt das Formaldehyd bei der Wohnungsdesinfektion, soweit es sich um Keimbefreiung von Oberflächen handelt, unbestritten die herrschende Stellung ein. Alle anderen Methoden, wie z. B. das hier und da noch geübte altertümliche Ausräuchern mit Schwefel, sind mit Recht zu Gunsten dieses einzigen, wissenschaftlich begründeten Verfahrens verlassen worden.

Der Verdampfung des Formaldehyds, dem stets aus bekannten Gründen eine genügende Menge Wasser beigegeben werden muß, dient eine Reihe von Apparaten, die fast alle, einfacher oder komplizierter gebaut, in der Desinfektionspraxis gute Dienste leisten. Solche Apparate sind z. B. die von Flügge, Proskauer, Prausnitz, Czaplewski, Lingner, Schering u. s. w.

Bei allen diesen Apparaten geschieht die Verdampfung des Formaldehyds und des Wassers, mögen diese Stoffe in getrennten oder in gemeinsamen Behältern untergebracht sein, durch offen brennende Flammen und erfordert naturgemäß einen gewissen Zeitraum. Da nun unter solchen Verhältnissen eine Anhäufung der Formaldehydgase zur wirksamen Konzentration erst im Laufe einer längeren Zeitperiode erreicht werden kann — 30—40 Minuten —, so muß durch sorgfältige, wegen der erforderlichen Hilfskräfte auch kostspielige Abdichtungen ein allfällig eintretender Verlust an wirksamer Substanz verhütet werden. Steinitz und ebenso Reichenbach heben ausdrücklich hervor, daß mit Rücksicht auf diesen Umstand jenes Prinzip den Vorzug verdient, das in einer gewissen Zeiteinheit eine möglichst hohe und rasche Konzentration von Formaldehyd zu erzielen gestattet. Verschiedene Verfahren sind angegeben worden, die im Interesse einer Vereinfachung der Methode von besonderen Apparaten absehen und zugleich zu einer schnellen Bildung und Anhäufung von Formaldehyd und Wasserdämpfen geeignet sein sollen. Wir nennen in dieser Beziehung das Verfahren vermittelst Karboformalglühblocks nach Krell, das Verdampfen der wässerigen Lösungen des Formaldehyds durch Einbringen rotglühender Gußstahlbolzen nach Dieudonné oder durch Kugelketten nach Springfeld oder aber vermittelst Chamottesteinen nach Steinitz.

Alle diese letztgenannten Verfahren, welche die Apparate ersetzen sollen, sind, trotzdem sie von besonderen Apparaten absehen, sehr umständlich, führen keineswegs zum erstrebten Ziele und sind deshalb fast gänzlich verlassen worden.

Ein Raumdesinficiens, in welchem sich die Vorzüge des Formaldehyds in seiner gegenwärtigen Anwendungsweise ohne seine Nachteile, zu denen namentlich die Umständlichkeit des ganzen Verfahrens, seine Feuergefährlichkeit, die langsame Anhäufung der desinfizierenden Gase gehören, zu vereinigen scheinen, ist das von Eichengrün entdeckte und von den Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & Co. in Elberfeld in den Handel gebrachte Autan.

Das Autan ist eine Mischung von Paraform und Metallsuperoxyden in Pulverform, aus welcher sich beim Uebergießen mit einer bestimmten Menge erwärmten Wassers unter Schaumbildung und Temperatursteigerung mächtige Dämpfe auf chemischem Wege entpolymerisiertem Formaldehyd und Wasser entwickeln. Der beigegebene pulverförmige Ammoniak-Desodorisator wird in gleicher Weise zur Entwickelung gebracht.

Autan samt Ammoniakentwickler werden in separaten Paketen zusammen in luftdicht geschlossenen Blechbüchsen versandt, deren Inhalt genau auf bestimmte Raumeinheiten berechnet ist. Jede Büchse ist zugleich mit äußerlich angebrachten Marken versehen, welche die nötigen Mengen Wassers für die Autan- bezw. für die Ammoniakentwickelung angeben. Die Desinfektion verläuft in der Praxis höchst einfach, indem man das Pulver in ein genügend großes Eisen- oder Holzgefäß (Eimer, Waschzuber etc.) schüttet, dasselbe mit der angegebenen Quantität Wassers übergießt und etwas umrührt. Da die Entwickelung fast sofort eintritt und da im Augenblick eine hohe Konzentration von Formaldehyddämpfen erreicht wird, so kann von einer Abdichtung der allerkleinsten Spalten und Ritzen, wie sie an Türen und Fenstern bestehen, abgesehen werden. — Eine Abdichtung größerer Oeffnungen, wie z. B. Ventilatoren, schadhafte Türen und Fenster u. s. w. ist selbstverständlich, wenn man nicht allzu große Mengen Autan benutzen will.

Bei unseren Versuchen hatten wir uns zunächst lediglich mit der Wohnungsdesinfektion beschäftigt, später suchten wir uns zugleich über die Verhältnisse der relativen Feuchtigkeit in den desinfizierten Räumen zu orientieren und gingen schließlich zur Desinfektion transportabler Räume über.

Die Literatur über das Autan ist selbstverständlich noch eine sehr beschränkte; sie ist fast zugleich mit unseren Arbeiten oder kurze Zeit nach ihnen erschienen.

Zu erwähnen ist zunächst Wesenberg, der die hohe Konzentration der Formaldehyddämpfe in den desinfizierten Räumen konstatiert und ohne Abdichtung gute desinfektorische Wirkungen erzielt hat, und Selter, der dem Autan nicht nur eine gute Flächen-, sondern auch eine erhebliche Tiefenwirkung zuschreibt. Nieter bestätigt die gute desinfektorische Wirkung des Autans bei der Wohnungsdesinfektion, wenn gleichzeitig Abdichtung erfolgt. Nur Kirstein ist zu ungünstigen Ergebnissen gelangt, hat bei seinen Versuchen aber die ältere, jetzt nicht mehr zur Abgabe gelangende Packung des Autans verwendet.

Was Einzelheiten anbetrifft, so werden wir im folgenden speziellen Teil unserer Arbeit Gelegenheit haben, manches noch näher zu besprechen.

Methodik. Als Testobjekt benutzten wir bei unseren Untersuchungen fast durchweg ziemlich dicke, etwa 2 cm lange Seidenfäden, die

mit dichten Emulsionen gut gewachsener Kulturen von Typhus, Diphtherie, Staphylococcus pyog. aureus (auffällig resistenter Stamm) und sporenhaltigem Milzbrand getränkt worden waren. Die Fäden gelangten im getrockneten oder feuchten Zustande zur Auslegung. Die Exposition fand meist innerhalb abgedeckter kleiner Petrischer Schalen statt, die in dem betreffenden Raum an den verschiedensten Stellen, auf dem Boden, in toten Ecken, unterhalb von Möbelstücken, in Schränken, auf den Oefen u. s. w. verteilt wurden. In einigen Versuchen wurde auch die Einwirkung der Formaldehyddämpfe auf offen exponierte Plattenkulturen in großen Petrischen Schalen beobachtet. Von einem Studium der Tiefenwirkung hatten wir vorderhand im allgemeinen abgesehen, da ein solcher Effekt auch mit den anderen bewährten Verfahren nicht sicher erreichbar ist, und wir zudem bei unseren Arbeiten ausschließlich vergleichende Resultate zu gewinnen gedachten. Erwähnt sei noch, daß auch Tuberkelbacillen im Sputum der Desinfektion ausgesetzt wurden und zwar feucht in offenen Petrischen Schalen oder an den Schalen angetrocknet.

Was die Verimpfung der Testobjekte nach beendeter Desinfektion anbetrifft, so wurde die Aussaat sowohl in verflüssigten Agar wie in Bouillon vorgenommen. Ausdrücklich heben wir hervor, daß dazu stets Mengen von mindestens 10 ccm Nährsubstrat benutzt wurden, um eine stärkere Verdünnung des wohl nur in sehr geringen Spuren anhaftenden Desinficiens herbeizuführen.

Zur Entfernung solcher geringen Reste des Formaldehyds, die unseres Erachtens bei der starken Verdünnung und der ziemlich langen Beobachtungszeit nicht besonders in Betracht kommen, kann entweder die Ammoniakspülung oder die einfache Lüftung angewendet werden. Wir haben bei einem Teil unserer Versuche die Ammoniakspülung gewählt — eine 1-proz. sterile Lösung — hauptsächlich mit Rücksicht auf die ungünstigen Resultate Kirsteins, die bei gleicher Versuchsanordnung erzielt wurden und dann deswegen, weil bei der Lüftung möglicherweise statt einer Elimination eine Summation des desinfektorischen Effekts durch Nachwirkung entstehen könnte. Das desinfizierte Sputum wurde in einer größeren Quantität steriler Flüssigkeit aufgeschwemmt und Meerschweinchen subkutan injiziert. Wie Reichenbach und Selter teilen auch wir die Bedenken C. Spenglers nicht, der allerdings mit Recht die große entwickelungshemmende Eigenschaft des Formalins hervorhebt. Wir haben die Einwirkung der Formaldehydgase auf Tuberkelbacillen schon früher in größeren Versuchsreihen studiert und nie beobachten können, daß angeblich durch das Desinficiens abgeschwächte aber nicht abgetötete Bakterien im Tierkörper vollends den bakteriziden Kräften des Organismus erliegen, während sie in Kulturen noch zum Wachstum gelangen.

Die Anlegung von Kontrollkulturen bezw. die Impfung von Kontrolltieren fand unter gleichen Verhältnissen wie bei den desinfizierten Testobjekten statt.

Das gesamte Kulturmaterial wurde meistens 6—7 Tage beobachtet, eine 30-tägige Beobachtung, wie sie Werner für Milzbrandkulturen verlangt, halten wir nach unseren Erfahrungen nicht für notwendig. Außerdem ist in den meisten Fällen eine längere Beobachtung schon deshalb unmöglich, weil sich in den Kulturen, wenn man mit Petrischen Schalen arbeitet, Schimmelpilze ansiedeln und dieselben bald überwuchern.

Wir gehen nun im Nachstehenden zu unseren Versuchen über.

Erster Versuch (Tabelle I).

1. November 1906. Der erste Versuch wurde in dem kellerartigen Haftlokal eines alten Polizeigebäudes vorgenommen. Rauminhalt etwa 60 cbm. Verwendete Autanmenge: 1 Paket für 60 cbm Raum. Dauer der Einwirkung 5 Stunden. Der betreffende Raum befand sich in außerordentlich schlechtem baulichen Zustand, so daß die Fenster und namentlich die Türen weitklaffende Ritzen und Öffnungen aufwiesen. Die Autanbüchse, von welcher eine kleine Quantität Substanz zu einer Demonstration entnommen worden war, stand längere Zeit im Laboratorium, ohne daß der Deckel nach Oeffnung, wie vorgeschrieben, mit Papierstreifen verklebt wurde. Diese Momente dürften wohl den weniger günstigen Ausgang der Desinfektion erklären. Als Testobjekte wurden im ganzen 38 Proben aufgestellt und zwar

17 Proben Staphylokokken,
8 „ Milzbrand,
13 „ Diphtheriebacillen.

Das Ergebnis des Versuches war folgendes:

Trockene Milzbrandfäden waren einmal abgetötet. Staphylokokken, je zweimal in feuchtem und trockenem Zustande in offener Petri-Schale, einmal in halb offener Petri-Schale und einmal im offenen Reagenzglas. Diphtheriebacillen erlagen in feuchtem Zustande in halb offener und vollkommen abgedeckter Schale, sogar unter einer Wolldecke, der Einwirkung des Desinfektionsmittels. An den exponierten Agarkulturen (Röhrchen und Platten) war eine Abtötung nicht erzielt.

Nach Ablauf von 5 Stunden wurde der Raum zum erstenmal wieder betreten und es zeigte sich ein deutlicher, aber nicht besonders stark belästigender Formaldehydgeruch, der durch Ammoniak und darauffolgende Lüftung in kurzer Zeit vollkommen beseitigt war.

Tabelle I. Versuch I.

1. Nov. 1906. Kellerräumlichkeiten. Rauminhalt ca. 60 cbm. Verwendete Autanmenge: Paket für 60 cbm Raum. Einwirkungsdauer 5 Stunden. Exposition der Testobjekte an verschiedenen Stellen des Fußbodens in Ecken, auf einer Pritsche, am Fenster, auf dem Ofen, zum Teil offen oder geschlossen oder unter Wolldecken.

Testobjekte	Resultat
Sporenhaltiger Milzbrand:	
5 Proben an Fäden 3 Schrägagarkulturen	1 Fadenprobe abgetötet 4 Proben Wachstumshemmung. Kulturen unbeeinflußt
Staphylococcus aureus:	
12 Proben an Fäden (trocken oder feucht) 5 Schrägagarkulturen	3 Fadenproben abgetötet 3 Fadenproben Wachstumshemmung Alles andere unbeeinfußt
Diphtheriebacillen:	
10 Proben an Fäden 3 Agar- oder Serumkulturen	7 Fadenproben abgetötet 1 Kultur spärliches Wachstum 3 Fadenproben und 2 Kulturen unbeeinflußt
Kontrollproben:	Sämtlich reichliches Wachstum

Zweiter Versuch (Tabelle II).

15. Nov. 1906. Fand in einem möblierten Zimmer eines Privathauses statt. Das Zimmer besaß einen Rauminhalt von 30 cbm. Zur

Formaldehydentwickelung wurde doppelt soviel Autan, als es von seiten der Darsteller des Autans vorgeschrieben ist, verwendet, die Desinfektionsdauer aber annähernd auf die Hälfte der vorgeschriebenen Zeit (4 Stunden 45 Minuten) reduziert. Trotz gewaltiger Formaldehydentwickelung im Zimmer war keine Belästigung außerhalb, resp. in den benachbarten Räumen zu konstatieren. Als Testobjekte wurden im ganzen aufgestellt 18 Bakterien- und 4 Sputumproben. Sämtliche an den verschiedensten Teilen des Zimmers ausgesetzten, an Seidenfäden haftenden Bakterienarten erwiesen sich als abgetötet; auch Milzbrandbacillen mit reichlichen Sporen wurden an allen Stellen des Raumes vernichtet. Von den mit der Desinfektion ausgesetztem Sputum geimpften Meerschweinchen wies eins nach 2 Monaten eine tuberkulöse Drüse auf, zwei weitere waren gesund, das vierte war interkurrent eingegangen, während die Kontrolltiere einer allgemeinen Tuberkulose erlagen.

Die Kulturen, mit Ausnahme von Milzbrand, erfuhren nach 48 Stunden eine nachträgliche Abtötung.

Tabelle II. Versuch II.

15. Nov. 1906. Zimmer von 30 cbm Rauminhalt in einem Privathaus. Verwendete Autanmenge: Paket für 60 cbm Raum. Einwirkungsdauer: 4 Stunden 45 Minuten. Exposition der Testobjekte an verschiedenen Stellen des Fußbodens, in Ecken auf Möbeln in verschiedener Höhe, in offenen Schränken, auf Tisch, Fenster, Ofen etc.

Testobjekte	Resultat
Sporenhaltiger Milzbrand:	
2 Fadenproben	2 Fadenproben abgetötet
1 Schrägagarkultur	Kultur unbeeinflußt
Staphylococcus aureus:	
6 Fadenproben	4 Fadenproben abgetötet 1 Fadenprobe nur Wachstum in Bouillon 1 „ nur spärlich auf der Agarplatte
2 Schrägagarkulturen	Beide Kulturen nach 48 Std. abgetötet (cf. Text)
Diphtheriebacillen:	
6 Fadenproben	6 Fadenproben abgetötet
1 Kultur (Schrägserum)	1 Kultur nach 48 Std. abgetötet
Tuberkelbacillen:	
Trocken oder feucht	3 Tiere gesund, 1 Tier tuberkulös
Kontrollproben:	Sämtlich reichliches Wachstum
Kontrolltiere:	Alle Tiere tuberkulös

Die benachbarten Räume — durch unabgedichtete Türen verbundene Zimmer und Korridore — waren sowohl während des Versuches wie später frei von belästigenden Gerüchen. Nach Ablauf des Versuches konstatierte man einen intensiven Formaldehydgeruch, der aber gleichwohl den Aufenthalt im Zimmer für kürzere Zeit ohne allzugroße Belästigung der Augen und Nasenschleimhaut gestattete. Nach der Desinfektion waren Tapeten und sämtliche Möbel trocken, irgend eine Beschädigung aller im Zimmer befindlichen Gegenstände (Bilder, Spiegel, Teppiche, Betten, Vorhänge, polierte Möbel etc.) war nicht zu konstatieren. Der zur Formaldehydentwickelung benutzte Waschzuber war nach diesem und allen späteren Versuchen leicht von den zurückgebliebenen, nach Formaldehyd riechenden, kalkähnlichen Schlamm zu reinigen und

wies nicht die geringste Beschädigung auf. Erwähnt sei, daß Lederstühle vor der Desinfektion entfernt wurden. Die Beseitigung des Formaldehyds mit Ammoniak nach Abschluß des Versuches verlief rasch und ohne jede Störung des Haushalts.

Dritter Versuch (Tabelle III).

22. Nov. 1906. Es wurde für 2 Zimmer mit zusammen 70 cbm Raum eine für 120 cbm ausreichende Autanmenge benutzt. Dauer der Desinfektion 6 Stunden. Trotz der Konzentration des Desinficiens erfolgte keine Belästigung in den Nachbarräumen. Das Ergebnis der vorhergehenden Versuche läßt es selbstverständlich erscheinen, daß die Verwendung der approximativ doppelten Menge Autan bei einer Einwirkungsdauer, die annähernd der Vorschrift gerechnet wurde, ein günstiges Resultat zeitigen mußte. Das Resultat war ein vollkommenes.

Von 6 Fadenproben mit sporenhaltigem Milzbrand waren 5 völlig abgetötet; die 6. zeigte nach 48 Stunden nur in Bouillon spärliches Wachstum, während die Agarraussaat ohne Wachstum blieb; 4 Milzbrandkulturen (Agarplatten) blieben unbeeinflußt. Analog waren die Resultate mit den anderen Bakterienarten:

6	Fadenproben	Staphylokokken	sämtlich abgetötet
5	„	Diphtheriebacillen	„ „
6	„	Typhusbacillen	„ „

Die Kulturproben dieser Bakterienarten ergaben direkt nach der Desinfektion erfolgreiche Uebertragungen, waren aber sämtlich (in Summa 10 Proben) nach 48 Stunden vernichtet. Bezüglich einzelner Fadenproben ist noch zu bemerken, daß sie in den Taschen dicker Herrenkleider, in Pergamentpapier eingewickelt, exponiert waren und trotzdem völlig vernichtet wurden. Von 6 Sputumproben ergab die Verimpfung auf Meerschweinchen bei einem eine Tuberkulose; sowohl in feuchtem wie trockenem Zustande waren bei 2 resp. 3 Proben die Tuberkelbacillen abgetötet; die betreffenden Kontrolltiere dagegen zeigten sich hochgradig tuberkulös.

Tabelle III. Versuch III.

22. Nov. 1906. Exposition wie bei Versuch II, zum Teil in offenen Petri-Schalen und alsdann, in Pergamentpapier eingewickelt, in den Taschen von Kleidern.

Testobjekte	Resultat
Sporenhaltiger Milzbrand:	
6 Fadenproben	5 Fadenproben abgetötet 1 desgl. zeigt nach 48 Std. spärliches Wachstum in Bouillon, auf Agar nichts
4 Agarplattenkulturen	4 Kulturen unbeeinflußt
Staphylococcus aureus:	
6 Fadenproben	6 Fadenproben abgetötet
4 Agarplattenkulturen	4 Kulturen nach 48 Std. abgetötet
Diphtheriebacillen:	
5 Fadenproben (1 Probe in Kleidern)	5 Fadenproben abgetötet
3 Serumplattenkulturen	3 Kulturen nach 48 Std. abgetötet
Typhusbacillen:	
6 Fadenproben (3 Proben in Kleidern)	6 Fadenproben abgetötet
3 Agarplattenkulturen	3 Kulturen nach 24 Std. abgetötet
Tuberkelbacillen:	5 Tiere gesund, 1 Tier tuberkulös
Kontrolltiere:	Beide tuberkulös

Vierter Versuch (Tabelle IV).

7. Dez. 1906. Es wurde eine dem Rauminhalt des Zimmers nach den Angaben der Fabrik genau entsprechende Autanmenge verwendet. Größe des Zimmers: 40 cbm. Verwendete Autanmenge: $^2/_3$ eines Paketes für 60 cbm, dementsprechend Wasser etc. Die Dauer der Desinfektion betrug nach Vorschrift $7\,^1/_2$ Stunden. Das Resultat dieser letzten Versuchsreihe ist folgendes:

Sporenhaltiger, an Fäden angetrockneter Milzbrand zeigte im Verhältnis zu den Kontrollplatten eine starke Abnahme der Keimzahl und begann sich erst nach 36-stündigem Aufenthalte im Brutschranke zu entwickeln. Es bestand also eine ausgesprochene Wachstumshemmung der noch am Leben gebliebenen Sporen durch das Anhaften des Desinfektionsmittels. Die übrigen an Fäden haftenden Bakterien aber wurden sämtlich abgetötet (4 Proben Staphylokokken, 4 Proben Diphtheriebacillen, 4 Proben Typhusbacillen). Die exponierten Kulturen zeigten mit Ausnahme einer einzigen Milzbrandkultur nach 48 Stunden eine nachträglich eingetretene Abtötung. Von den mit tuberkelbacillenhaltigen Sputumproben geimpften Tieren blieben zwei gesund, eins zeigte nach 8 Wochen eine Drüsen-, das vierte eine allgemeine Tuberkulose.

Tabelle IV. Versuch IV.

7. Dez. 1906. Zimmer von 40 cbm Rauminhalt in einem Privathause. Verwendete Autanmenge: $^2/_3$ des Inhaltes eines Paketes für 60 cbm Raum. Einwirkungsdauer: $7\,^1/_2$ Stunden. Exposition wie bei Versuch II.

Testobjekte	Resultat
Sporenhaltiger Milzbrand:	
4 Fadenproben	4 Fadenproben nach 36 Std. kein Wachstum. Nach 72 Std. geringes Wachstum. (Im Maximum der 20. Teil im Vergleich zur Kontrolle)
3 Agarplattenkulturen	2 Kulturen nach 50 Std. abgetötet
Staphylococcus aureus:	
4 Fadenproben	4 Fadenproben abgetötet
3 Agarplattenkulturen	3 Kulturen nach 50 Std. abgetötet
Diphtheriebacillen:	
4 Fadenproben	2 Fadenproben abgetötet 2 „ nur auf Bouillon Wachstum
4 Serumplattenkulturen	3 Kulturen nach 50 Std. abgetötet
Typhusbacillen:	
4 Fadenproben	4 Fadenproben abgetötet
3 Agarplattenkulturen	3 Kulturen nach 24 Std. abgetötet
Tuberkelbacillen:	2 Tiere gesund, 2 Tiere tuberkulös
Kontrollproben:	Sämtlich reichliches Wachstum

Fünfter Versuch (Tabelle V).

29. Dez. 1906. Tierstall im Institute. Rauminhalt: 186 cbm. Verwendete Autanmenge 1 Paket für 175 cbm Raum. Einwirkungsdauer: 6 Std. 20 Min. Das Autan wurde in 3 Waschbottiche gleichmäßig verteilt und mit den vorgeschriebenen Wassermengen übergossen. Die erzielte Wirkung war äußerst befriedigend: Sämtliche Fadenproben (4mal sporenhaltiger Milzbrand, 3mal Typhusbacillen, 3mal Diphtheriebacillen, 3mal Staphylokokken) waren abgetötet; hingegen waren die exponierten

Kulturen weniger beeinflußt als die Testobjekte gleicher Art in den vorigen Versuchsreihen.

Tabelle V. Versuch V.

29. Dez. 1906. Stall von 186 cbm Rauminhalt. Verwendete Autanmenge: Paket für 175 cbm Raum. Einwirkungsdauer: 6 Std. 20 Min.

Testobjekte	Resultat
Sporenhaltiger Milzbrand:	
4 Fadenproben	4 Fadenproben abgetötet
3 Agarplattenkulturen	Nicht abgetötet
Typhusbacillen:	
3 Fadenproben	3 Fadenproben abgetötet
2 Agarplattenkulturen	Nicht abgetötet
Diphtheriebacillen:	
3 Fadenproben	3 Fadenproben abgetötet
2 Serumkulturen	Nicht abgetötet
Staphylococcus pyogenes aureus	
3 Fadenproben	3 Fadenproben abgetötet
2 Agarplattenkulturen	Nicht abgetötet

Zur Ergänzung dieser Versuche wurden die folgenden Desinfektionen mittels anderer Verfahren aus zwei Gründen vorgenommen: 1) Um die Widerstandsfähigkeit der benutzten Bakterien gegenüber anderen Desinfektionsverfahren festzustellen und 2) um zu erfahren, wie die Belästigungen in den Räumen des gleichen Hauses bei Benutzung anderer Methoden sein würden. Es wurden herangezogen

1) Der Apparat Berolina zur Formaldehydverdampfung nach Proskauer und Elsner;

2) die neue Modifikation des Lingnerschen Apparates.

Verfahren mittels des Apparates Berolina (Tabelle VI).

13. Dez. 1906. Zimmer von 40 cbm Inhalt. Verwendete Materialien: 1000 ccm 40-proz. Formaldehyd, 600 ccm Spiritus, $2^3/_4$ l heißes Wasser. Sorgfältige Abdichtung der Türen und Fenster. Dauer der Desinfektion: 4 Stunden. Rückstand im Apparat: Wasser 1450 ccm, Formaldehyd 60 ccm.

Trotz der sorgfältigen Abdichtung machte sich der Formaldehydgeruch im Korridor und im nebenanliegenden Zimmer sehr intensiv bemerkbar. Ein Betreten des desinfizierten Zimmers nach vollzogener Desinfektion war fast unmöglich. Boden, Möbeloberflächen etc. sind wie mit Tau beschlagen. Aufgestellt waren im ganzen 24 verschiedene Proben (Milzbrand, Staphylokokken, Diphtheriebacillen, Typhusbacillen) und einige Sputumproben wie in den vorigen Versuchen. Das Ergebnis war folgendes:

Milzbrand an Seidenfäden wurde mit Ausnahme einer Probe abgetötet. Den gleichen Effekt zeigten die anderen, an Fäden haftenden Bakterien mit Ausnahme einer Staphylokokkenprobe, die in einer Ecke des Zimmers auf dem Boden exponiert war. Von den Kulturen war nur Milzbrand unbeeinflußt, alle anderen Kulturen waren nach 48 Stunden abgetötet. Die mit tuberkelbacillenhaltigen Sputumproben infizierten Meerschweinchen zeigten 10 Wochen nach der Impfung keine Symptome einer bestehenden Tuberkulose.

Tabelle VI. Versuch VI.

13. Dez. 1906. Desinfektionsapparat Berolina. Zimmer von 30 cbm Rauminhalt. 40-proz. Formaldehyd: 1000 g, Brennspiritus: 600 g, Wasser: 2 3/4 l. Dauer der Desinfektion: 4 Stunden.

Testobjekte	Resultat
Sporenhaltiger Milzbrand:	
4 Fadenproben	3 Proben abgetötet, 1 Probe nach 78 Std. Wachstum
2 Agarplattenkulturen	Ueberimpfung nach 24 Std. positiv, nach 48 Std. nur eine Kultur abgetötet
Staphylococcus pyogenes aureus	
4 Fadenproben	3 Proben abgetötet, 1 Probe auf Agar 800 Kolonieen
3 Agarkulturen	Nach 48 Std. abgetötet
Typhusbacillen:	
4 Fadenproben	Alle Proben abgetötet
2 Agarplattenkulturen	Abgetötet
Diphtheriebacillen:	
4 Fadenproben	Alle abgetötet
2 Serumkulturen	Abgetötet
Tuberkulose:	Alle Tiere gesund

Das Lingnersche Desinfektionsverfahren.

13. Dez. 1906. 30 cbm Raum, 600 g 40-proz. Formaldehyd, 1/2 l Brennspiritus, 2 l heißes Wasser. Dauer der Desinfektion: 3 1/2 Stunden. Dieser Versuch hat ein ähnlich gutes Resultat wie die Prüfung des Proskauerschen Apparates ergeben. Die Desinfektion war eine vollkommene, die nachträgliche Beeinflussung der Kulturen geschah analog dem Ergebnis der früheren Versuche. In gleicher Weise wie bei dem Proskauerschen Verfahren und im Gegensatze zu Autan war die Belästigung

Tabelle VI. Versuch VII.

13. Dez. 1906. Desinfektionsapparat von Lingner, neuestes Modell. Zimmer von 30 cbm Rauminhalt in einem Privathaus. 40 Proz. Formaldehyd: 600 g. Brennspiritus 1/2 l, Wasser 2 l. Dauer der Desinfektion 3 1/2 Stunden. Exposition der Testobjekte wie bei Versuch II..

Testobjekte	Resultat
Sporenhaltiger Milzbrand:	
4 Fadenproben	4 Fadenproben abgetötet
2 Agarplattenkulturen	2 Kulturen nach 48 Std. abgetötet
Staphylococcus aureus:	
4 Fadenproben	4 Fadenproben abgetötet
2 Agarplattenkulturen	2 Kulturen nach 48 Std. abgetötet
Diphtheriebacillen:	
4 Fadenproben	4 Fadenproben abgetötet
2 Serumplattenkulturen	1 Kultur sofort abgetötet 1 Kultur nach 24 Std. abgetötet
Typhusbacillen:	
4 Fadenproben	4 Fadenproben abgetötet
2 Agarplattenkulturen	2 Kulturen nach 24 Std. abgetötet
Tuberkelbacillen:	Alle Tiere gesund
Kontrollproben:	Sämtlich reichliches Wachstum

in den umliegenden Räumen eine starke und erstreckte sich sogar auf ein Zimmer, das weder durch eine Tür noch durch einen gemeinsamen Korridor mit dem Versuchsraum in Verbindung stand. Auf dem Boden und den horizontalen Möbelflächen befand sich ein reichlicher, feuchter Niederschlag, der bei allmählicher Eintrocknung sich schmierig anfühlte und nach Formaldehyd roch. Aehnlich verhielt es sich mit den Tapeten. Der Rückstand im Apparat betrug an Wasser 350 ccm, an Formaldehyd 0 ccm. Als Testobjekte dienten im ganzen 16 Fadenproben, 6 Kulturproben und 3 Sputumproben. Die mit den letzteren geimpften Meerschweinchen waren 10 Wochen nach der Infektion noch gesund, während die Kontrolltiere bereits 3 Wochen nach der Impfung ausgeprägte Symptome der Tuberkulose darboten.

In den folgenden Versuchen haben wir uns über die Verhältnisse der relativen Feuchtigkeit bei der Autandesinfektion zu orientieren gesucht, da von Kirstein eine genügende Entwickelung von Wasserdämpfen bei diesem Verfahren angezweifelt wird. Die Testobjekte gelangten bei diesen wie bei allen nachstehenden Versuchen entweder direkt oder nach vorgängiger gründlicher Abspülung in 1-proz. Ammoniaklösung zur Verimpfung, ohne daß jedoch mit Hilfe letzterer Methode ein geringerer Desinfektionseffekt hätte ermittelt werden können.

Der erste Versuch dieser Gruppe wurde im sogenannten Recknagelschen Pavillon, das zur Demonstration der Ruhezone als Ventilationsmodell dient, vorgenommen. Die Rückwand dieses Modells ist mit Baumwollstoff bespannt und an der Seitenwand befinden sich 3 Klappen. Rauminhalt ca. 0,23 cbm. Es wurden 10,78 g Autan und 9,63 g Wasser benutzt. Die Registrierung der Luftfeuchtigkeit geschah vermittelst des Augustschen Psychrometers, das im Innern des Apparates aufgestellt wurde.

Wie die Tabelle VII zeigt, stieg die relative Feuchtigkeit sofort nach beginnender Entwickelung des Autans von 49 Proz. auf 91 Proz. und betrug noch nach $2^1/_2$ Stunden 80 Proz.

Tabelle VII.

I. Versuch zur Bestimmung der relativen Feuchtigkeit in Recknagels Pavillon, Rauminhalt 0,23 cbm; Autan: 10,78 g; Wasser: 9,63 g.

Zeit	Relative Feuchtigkeit
Vor dem Versuch	49 Proz.
Sofort nach dem Versuch	80 „
(4 Uhr 30 Min.)	91,0 „
4 Uhr 30 Min.	86 „
5 „	89 „
5 „ 15 „	83 „
5 „ 45 „	83 „
6 „	80 „
7 „	80 „

Der zweite Versuch (Tabelle VIII) diente zugleich zur Feststellung des desinfektorischen Effekts. Die Testobjekte wurden an langen Stecknadeln an den verschiedenen Stellen des Ventilationspavillons angebracht. Verwendetes Autan 15 g, Wasser 12,5 g. Dauer der Desinfektion $5^1/_2$ Stunden. Aus der Tabelle VIII geht hervor, daß die relative Feuchtigkeit fast sofort auf 99 Proz. anstieg und nach 5 Stunden noch 95 Proz. betrug. Der Desinfektionseffekt war ein vollkommener. Alle exponierten Objekte sowohl die direkt verimpften wie die vorher mit 1-proz. Ammoniaklösung abgespülten, waren abgetötet.

Tabelle VIII.

II. Versuch in Recknagels Pavillon, Rauminhalt 0,23 cbm. Autan 15 g, Wasser: 12,5 g, Expositionszeit 5½ Stunden.

1. Februar 1907, 12¼ Uhr mittags.

Bestimmung der relativen Feuchtigkeit.

Zeit	Relative Feuchtigkeit
Vor dem Versuch	54 Proz.
Sofort nach dem Versuch (12¼ Uhr)	91 „
12 Uhr 30 Min.	99,0 „
1 „ 20 „	94,0 „
2 „ 30 „ (geöffnete Fenster)	97 „
3 „	98 „
3 „ 30 „	98 „
4 „ 15 „	97 „
4 „ 45 „	96 „
5 „ 30 „	95 „

Desinfektionseffekt.

Testobjekte	Expositionsort	Erfolg der Impfung	
		Direkte Verimpfung	Vor Verimpfung Abspülung in 1-proz. Ammoniak
Staphylokokken	Boden	Wachstum	0
„	„	0	0
„	½ m Höhe an der Wand	0	0
„	An der Decke	0	0
„	„ „ „	0	0
„	½ m Höhe an der Wand	0	0
Typhus	Boden	0	0
„	„	0	0
„	½ m Höhe an der Wand	0	0
„	An der Decke	0	0
„	„ „ „	0	0
„	½ m Höhe an der Wand	0	0
„	½ „ „ „ „ „	0	0
Diphtherie	Boden	0	0
„	„	0	0
„	½ m Höhe an der Wand	0	0
„	An der Decke	0	0
Milzbrand	Boden	0	0
„	„	0	0

Beim dritten Versuch (Tabelle IX), der ebenfalls im gleichen Pavillon stattfand, wurden 50 g Autan und 40 g Wasser benutzt. Dauer

Tabelle IX.

III. Versuch in Recknagels Pavillon, Autan 50 g, Wasser 40 g. Expositionszeit 13½ Stunden.

1. Februar 1907, 7 Uhr 30 Min. abends.

Bestimmung der relativen Feuchtigkeit.

Zeit	Relative Feuchtigkeit
Vor dem Versuch (7 Uhr 30 Min.)	65 Proz.
Sofort nach dem Versuch	100 „
7 Uhr 45 Min.	100 „
8 „ 10 „	100 „
8 „ 30 „	100 „
9 „	100 „
10 „	98,0 „
2. Februar, morgens 9 Uhr	95 „

Desinfektionseffekt

Testobjekte	Expositionsort	Erfolg der Impfung: Direkte Verimpfung	Erfolg der Impfung: Vor Verimpfung Abspülung in 1-proz. Ammoniak
Staphylokokken	Boden	0	0
„	„	0	0
„	$^1/_2$ m Höhe an der Wand	0	0
„	$^1/_2$ „ „ „ „ „	0	0
„	$^1/_2$ „ „ „ „ „	0	0
„	Decke	0	0
„	„	0	0
„	„	0	0
Typhus	Boden	0	0
„	„	0	0
„	$^1/_2$ m Höhe an der Wand	0	0
„	$^1/_2$ „ „ „ „ „	0	0
„	$^1/_2$ „ „ „ „ „	0	0
„	Decke	0	0
„	„	0	0
Diphtherie	Boden	0	0
„	$^1/_2$ m Höhe an der Wand	0	0
„	$^1/_2$ „ „ „ „ „	0	0
„	Decke	0	0
„	„	0	0
„	„	0	0
Milzbrand	Boden	0	0
„ (4 Fäden)	„	0	0

der Desinfektion 13$^1/_2$ Stunden; die Sättigung war sofort erreicht; am nächsten Morgen — nach 13$^1/_2$ Stunden — betrug die relative Feuchtigkeit 95 Proz. Sämtliche Testobjekte waren abgetötet.

Der vierte Versuch fand in einem Zimmer des Instituts statt. Dieser südwest gelegene, mit starken Undichtigkeiten versehene Raum, der überdies ein gleichsam als Kamin wirkendes Oberlicht besitzt, ist dem äußeren Luftzug sehr stark ausgesetzt. An dem betreffenden Tage herrschte zudem stürmisches Wetter und das nebenanliegende Fenster im Korridor blieb fast während der ganzen Dauer des Versuches geöffnet. Während in dieser Weise 3 Seiten des Raumes einer starken Abkühlung ausgesetzt waren, war die vierte, die Innenseite das Zimmers so geschützt und warm gelegen, daß ihre Temperatur nur sehr langsam eintretenden Schwankungen ausgesetzt ist.

Tabelle X.

Zimmer im Institut. Rauminhalt ca. 95 cbm, Autan für 120 cbm Raum. Entsprechende Wassermenge 3200 g. Expositionszeit 5 Stunden.

2. Februar 1907, 12 Uhr 30 Min. mittags. Desinfektionsdauer 5 Stunden.

Bestimmung der relativen Feuchtigkeit.

Zeit	Relative Feuchtigkeit
Vor dem Versuch	30 Proz.
Sofort nach dem Versuch (12 Uhr 30 Min.)	90 „
1 Uhr 40 Min.	79 „
2 „ 40 „	68 „
5 „	66 „
6 „	64 „
8 „	64 „
10 „ 15 Min.	54 „
7 „ 20 „ (morgens 3. Februar)	50 „

Desinfektionseffekt.

Testobjekte	Expositionsort	Erfolg der Impfung	
		Direkte Verimpfung	Verimpfung nach Abspülung mit 1-proz. Ammoniak
Milzbrand	Tisch	0	0
"	"	0	0
"	"	0	0
Staph. aureus	"	Wachstum	0
"	"	0	0
"	"	0	0
Typhus	"	0	0
"	"	0	0

Aus der Tabelle X ist ersichtlich, daß die Feuchtigkeit sofort nach dem Versuch 90 Proz. betrug und daß sie trotz der angedeuteten sehr ungünstigen Verhältnisse am nächsten Morgen noch 50 Proz. zeigte. Der Desinfektionseffekt — nach nur 5-stündiger Einwirkung — war ein beinahe vollkommener.

Ein weiterer Versuch in dem gleichen Raume, bei dem aber nur für 100 ccm Raum Autan verwendet wurde, fand am 23. Febr. 1907 statt.

Wie die Tabelle zeigt, waren Feuchtigkeitsgehalt und Desinfektionseffekt auch bei Verwendung geringerer Mengen von Autan recht zufriedenstellend. Sämtliche Objekte gelangten in nicht abgespültem und in abgespültem Zustande zur Verimpfung.

Tabelle XI.

Zimmer wie im vorigen Versuch. Autan für 100 ccm Raum. Dauer der Desinfektion 7 Stunden.

Bestimmung der relativen Feuchtigkeit.

Zeit	Relative Feuchtigkeit
Vor dem Versuch	47 Proz.
Sofort nach der Entwickelung	91 "
Nach 7 Stunden	91 "

Desinfektionseffekt.

Testobjekte	Resultat
Staphylococcus aureus	
6 Fadenproben	5 Proben abgetötet, 1 Probe ergibt 800 Kulturen auf Agar
Diphtheriebacillen	
6 Fadenproben	Alle Proben abgetötet
Sporenhaltiger Milzbrand	
5 Fadenproben	4 Proben abgetötet, 1 Probe ergibt nur Wachstum in Bouillon

Aus dieser Versuchsreihe geht also mit Sicherheit hervor, daß bei dem Autanverfahren eine fast vollkommene Sättigung der Luft mit Wasserdämpfen erzielt wird, eine Sättigung, die ihren Höhepunkt gleich bei der Entwickelung erlangt und denselben während mehreren Stunden beibehält.

Daß eine Autandesinfektion unter ungünstigen Verhältnissen ganz ungünstige Ergebnisse zur Folge haben kann, lehrt folgender Versuch. Solche Bedingungen bilden das Vorhandensein von größeren Oeffnungen,

namentlich schlecht abgedichtete Ventilatoren, und wie es scheint, allzugroße Differenzen zwischen Außen- und Innentemperatur. Infolge solcher Unterschiede findet an den kalten Wandflächen ständig eine Niederschlagsbildung statt und damit eine Verminderung des in der Luft verteilten Formaldehyds. Ferner ist unter diesen Bedingungen die natürliche Ventilation eine sehr starke. Dadurch wäre es theoretisch sehr wohl denkbar, daß sich auf den kälteren Flächen so viel Wasser und Formaldehyd niederschlägt, daß eine Desinfektion der wärmeren Teile völlig unmöglich wird.

8. Febr. 1907. Desinfektion zweier zusammenhängender Zimmer mit zusammen 195 cbm Raum. Verwendetes Autan 4 Büchsen à 60 cbm in 4 Kübeln verteilt. Temperatur im Zimmer 25° C, Außentemperatur etwa —8° C. In den Zimmern befinden sich Ventilatoren, die schlecht schließen. Dauer der Desinfektion 7 Stunden. Bei Betreten der Zimmer nach vollendeter Desinfektion ist nur ein ganz geringer Formaldehydgeruch wahrnehmbar.

Der Erfolg der Desinfektion war ein ganz geringer und machte sich nur an den weniger resistenten Testobjekten, wie Thyphusbacillen, in Form von Entwickelungshemmung geltend. In diesem Versuch haben offenbar die schlecht schließenden Ventilatoren im Verein mit der bemerkenswerten Differenz zwischen Außen- und Innentemperatur aller Wahrscheinlichkeit nach den schlechten Ausgang der Desinfektion bedingt.

Interessant erscheint im Vergleich dazu der nächste Versuch.

Es handelt sich dabei um die am 12. Febr. 1907 — also 4 Tage später — vorgenommene Desinfektion einer einstöckigen Isolierbaracke im Frauenspital. Das ungewöhnlich hohe Zimmer besaß einen Rauminhalt von 155 cbm. Die Latten an der gewölbten Decke zeigten zahlreiche, teils sehr breite Fugen, die, direkt unter der Ziegelbedeckung des Daches gelegen, mit der Außenluft kommunizierten. Innentemperatur 6° C, Außentemperatur —8° C. Es wurde Autan für 160 cbm Raum benutzt. Beim Betreten des Zimmers am nächsten Tage — nach 16 Stunden — war der Formaldehydgeruch ein sehr intensiver. Sämtliche Fadenproben — 4 Proben Staphylococcus pyog. aur., 2 Proben Diphtheriebacillen, 2 Proben Typhusbacillen, 2 Proben sporenhaltige Milzbrandbacillen und einige Proben mit Eiter imprägnierter Verbandgaze — mit Ausnahme einer einzigen Milzbrandprobe erwiesen sich als steril. In diesem Raume also, wo die Differenz zwischen Außen- und Innentemperatur keine sehr bedeutende war und wo Ventilatoren fehlten, hatte trotz der außerordentlich defekten Decke, die an zahlreichen ausgedehnten Stellen eine Kommunikation mit der Außenluft gestattete, ein weit geringerer Verlust an Formaldehyddämpfen stattgefunden wie im gutgebauten Zimmer der vorigen Versuches.

Zwei weitere Versuche fanden in 2 getrennten Zimmern des gleichen Institutes statt. Der Erfolg war viel besser als im vorigen Versuch, jedoch unvollkommen.

14. Febr. 1907. Krankenzimmer. Rauminhalt 57 cbm, Autan 60 cbm. Dauer der Desinfektion $7^1/_2$ Stunde. Die relative Feuchtigkeit betrug zu Anfang 48° und am Schluß des Versuches 45°.

Die Desinfektion hatte folgendes Ergebnis.

Abgetötet wurden eine Milzbrandprobe, 2 Typhusproben, eine Diphtherieprobe; unbeeinflußt blieb eine Staphylokokkenprobe, die auf dem Fensterbrett exponiert wurde und 21 600 Kolonieen auf der Agarplatte ergab und eine am Boden exponierte Diphtherieprobe.

14. Febr. 1907. Krankenzimmer. Rauminhalt 93 cbm, Autan 100 ccm. Dauer der Desinfektion $7^1/_2$ Stunden.

Desinfektionserfolg.

Abgetötet wurden 2 Milzbrandproben, 2 Typhusproben, eine Diphtherieprobe und eine Staphylokokkenprobe, unbeeinflußt blieben 2 Staphylokokken — die eine Probe ergab 21000 Kolonieen auf der Agarplatte, die andere 7 Kolonieen — und 2 Diphtherieproben, die nur wenige Kolonieen entwickelten.

An den ausgelegten, mit Sekret getränkten Gazestückchen waren nur Erscheinungen der Entwickelungshemmung erkennbar.

Zimmer No. 9 und 10 hatten eine Innentemperatur von mindestens 22° — Außentemperatur etwa —8° C — und besaßen beide Heißluftheizkörper. Bei diesen weniger günstigen Erfolgen werden wohl ebenfalls Temperaturdifferenzen eine Rolle spielen. Es ist also notwendig, alle größeren Oeffnungen, z. B. Ventilationsklappen, große Ritzen in Türen und Fenstern abzudichten, und bei großen Temperaturdifferenzen zwischen Außen- und Innentemperatur einen erheblichen Ueberschuß des Formaldehyds zu erzielen, dadurch, daß man entsprechend größere Autanmengen zum Verdampfen bringt.

Die nachfolgenden beiden Versuche sind zu dem Zwecke angestellt worden, zu erfahren, ob es bei Desinfektion von größeren Räumen von Einfluß ist, wenn die erforderliche Autanmenge in einem einzigen Gefäße oder in mehrere Gefäße verteilt, zur Entwickelung gebracht wird.

21. Febr. 1907. Stall im Institut, Rauminhalt 186 cbm, Autan für 200 cbm Raum in einem einzigen Gefäße. Dauer der Desinfektion 7 Stunden.

Erfolg der Desinfektion.

Abgetötet wurden 3 Proben sporenhaltige Milzbrandbacillen, 5 Proben Typhusbacillen, eine Probe Staphylokokken und 7 Proben Diphtheriebacillen. Unbeeinflußt blieben 2 Proben Milzbrandbacillen — die eine Probe ergab auf Agar 4 Kolonieen, während die zweite Probe nur in Bouillon Wachstum zeigte — und 4 Proben Staphylokokken, von welchen die eine Probe auf der Agarplatte 20 Kolonieen, die zweite 3 Kolonieen, die dritte 80 Kolonieen, und die vierte 240 Kolonieen ergab.

Hinzugefügt sei, daß die Kontrollplatten von Milzbrand bezw. Staphylokokken unzählige Kolonieen ergaben. Es hat mithin auch bei diesen Testobjekten eine Abtötung der meisten Keime stattgefunden. Auch handelt es sich bei allen diesen Versuchen, wie bereits oben erwähnt, um einen Staphylokokkenstamm von ganz außerordentlicher Resistenz.

Der zweite Parallelversuch fand wenige Tage darauf im gleichen, gut gelüfteten Raume und mit der gleichen Autanmenge statt. Das Autan wurde diesmal in 4 einzelne Behälter verteilt. Dauer der Desinfektion 7 Stunden.

Erfolg der Desinfektion: Abgetötet wurden 9 Proben sporenhaltige Milzbrandbacillen, 13 Proben Typhusbacillen, 14 Proben Diphtheriebacillen und 3 Proben Staphylokokken. Nicht abgetötet wurden 2 Proben Milzbrandbacillen — eine Probe ergab auf Agar 4 Kolonieen, die zweite wuchs nur in Bouillon — und 3 Proben Staphylokokken. Die erste Probe ergab auf Agar 35 Kolonieen, die zweite 1200 und die dritte 15000 Kolonieen.

Auch hier zeigten die Kontrollplatten ein außerordentlich üppiges Wachstum.

Ein wesentlicher Unterschied scheint im Erfolg dieser beiden Versuche nicht vorzuliegen, wenn man auch geneigt sein mag, das Ergebnis im zweiten Versuche, bei dem das Autan in 4 Gefäßen zur Entwickelung gebracht wurde, als ein etwas günstigeres anzusehen.

Trotzdem empfiehlt es sich nach unseren Beobachtungen eher, nur in einem Gefäß die nötige Autanmenge zur Verdampfung zu bringen. Denn es kommt hierbei zu besonders intensiver Hitze und Dampfentwickelung. Sind besonders umfangreiche Räume wie Krankensäle, Kasernenräume, die mehr als 120 cbm Rauminhalt haben, etc. zu desinfizieren, so wird man zweckmäßig mehrere Gefäße verwenden.

Welch geringe Belästigung bei der Entwickelung des Autans die Formaldehyddämpfe auch bei ganz unvollkommener Abdichtung in den angrenzenden Räumen hervorrufen, beweist der folgende Versuch.

6. März 1907. Operationssaal im Jennerschen Kinderspital. Die beiden rechts und links angrenzenden Kabinete kommunizieren mit dem Operationszimmer durch Klapptüren, die nirgends dicht abschließen. Die Abdichtung mit Wattestreifen ist wegen der örtlichen Verhältnisse sehr schwierig und gelingt nur höchst unvollkommen. Ventilatoren und Abzugsöffnungen werden abgedichtet so gut es geht. Rauminhalt ca. 90 cbm, Autan in einer einem Raum von 110 cbm entsprechenden Menge. Dauer der Desinfektion ca. 13 Stunden. Die Entwickelung des Autans wird in 2 Kübeln vorgenommen. In den beiden durch schlecht abgedichtete Türen mit dem Operationssal verbundenen Kabinetten ist ein Formaldehydgeruch kaum fühlbar. Beim Betreten des desinfizierten Raumes am nächsten Morgen macht sich der Formaldehydgeruch sehr intensiv bemerkbar.

Erfolg der Desinfektion: Abgetötet wurden 10 Proben sporenhaltiger Milzbrandbacillen, 10 Proben Staphylokokken, 8 Proben Thyphusbacillen und 10 Proben Diphtheriebacillen, nicht abgetötet wurde eine Staphylokokkenprobe.

Wenn auch die Desinfektionsdauer in diesen Versuchen eine lange war, so müssen doch die anderen Momente, die hinsichtlich der Konservierung der Formaldehyddämpfe in Betracht kommen, als ziemlich

Einwirkung der Autantabletten auf die Bakterien im Sprechrohr des Telephons.

Dauer der Einwirkung	Erfolg der Impfung					
	Aureus		Milzbrand		Diphtherie	
	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon	Agar	Bouillon
	Im vorderen Raum des Schallbechers.					
30 Minuten	10 800	W.	200	W.	2700	W.
1 Stunde	20	W.	0	W. Henn.	900	W.
2 Stunden	1 200	W.	0	0	0	W.
4 „	300	W.	0	0	0	W.
5 „	35	W.	0	0	0	W.
6 „	0	W.	0	0	0	W.
7 „	0	W.	0	0	0	W.
	Hinter dem Gitter des Schallbechers.					
30 Minuten	15 800	W.	5400	W.	5400	W.
1 Stunde	16 200	W.	0	W. Henn.	5000	W.
2 Stunden	zahllos	W.	0	0	3000	W.
4 „	2 700	W.	0	0	2700	W.
5 „	26	W.	0	0	900	W.
6 „	480	W.	0	0	0	W.
7 „	0	W.	0	0	0	W.

ungünstige bezeichnet werden; trotzdem war der Desinfektionserfolg ein vollkommener.

Das Autan wird auch in Tablettenform, hauptsächlich zu Desodorierungszwecken, versandt. Es lag nun nahe, auch die desinfektorischen Eigenschaften dieser Tabletten beim Verwittern an der Luft zu prüfen. Zu diesem Zwecke wurde die Tablette in eine Kapsel eingeschlossen und diese dem Sprechrohr eines Telephons aufgestülpt, in dessen vorderen und hinteren Raum verschiedenes an Papierstückchen angetrocknetes Bakterienmaterial deponiert wurde.

Von Zeit zu Zeit wurden die Testobjekte entnommen und in Agar bezw. Bouillon verimpft.

Obwohl aus Mangel an Feuchtigkeit eine geringe Entwickelung von Formaldehyd stattfinden konnte, war doch der Desinfektionseffekt, wie die Tabelle beweist, ein bedeutender.

In der folgenden letzten Versuchsreihe haben wir die Leistungen des Autan bei der Desinfektion von Transportmitteln — Straßen- und Eisenbahnwagen — und von kleinen beweglichen Räumen — Schränke, Kisten — geprüft.

1. März 1907. Wagen der elektrischen Straßenbahn. Rauminhalt ca. 20 cbm. Autan 30 cbm. Dauer der Desinfektion 6 Stunden. Trotz intensiver Formaldehydentwickelung war ein Geruch weder auf der vorderen noch auf der hinteren dreiseitig geschlossenen Plattform bemerkbar.

Die Verhältnisse der Luftfeuchtigkeit und der Desinfektionserfolg ergeben sich aus nachstehender Zusammenstellung.

Zeit	Relative Feuchtigkeit in Prozent
Vor Beginn	54
Bei Beginn	94
Nach 2 Stunden	96
Am Schluß	85

Desinfektionserfolg.

Testobjekte	Resultat
Milzbrand:	
6 Fadenproben	Alle abgetötet
Staphylococcus aureus:	
8 Fadenproben	6 Proben abgetötet 2 Proben nicht abgetötet 1. Probe 1000 Kolonieen 2. Probe 750 Kolonieen
Typhusbacillen:	
6 Fadenproben	5 abgetötet, 1 Probe 4 Kolonieen
Diphtheriebacillen:	
5 Proben	4 Proben abgetötet 1 Probe nicht abgetötet.

3. April 1907. Kleiderschrank. Rauminhalt 0,4 cbm. Verwendet wurden 80 g Autan und 70 g Wasser. Dauer der Desinfektion 7 Stunden.

Erfolg der Desinfektion.

Abgetötet wurden 2 Proben sporenhaltige Milzbrandbacillen,
2 „ Diphtheriebacillen,
2 „ Typhusbacillen und
2 „ Staphylokokken.

2 Proben Staphylokokken — mit Staphylokokken mäßig imprägnierte Fäden —, die in Papier eingewickelt waren, wuchsen unter Erscheinungen starker Entwickelungshemmung nur in den Bouillonkulturen, während die Agarplatten steril blieben.

3. April 1907. Kleiderschrank. Rauminhalt 0,8 cbm. Verwendet wurden 160 g Autan und 150 g Wasser. Dauer der Desinfektion 7 Stunden.

Erfolg der Desinfektion.

Abgetötet wurden sämtliche Objekte, wie im vorstehenden Versuch.

Von 3 Proben Staphylokokken, die in Papier eingehüllt waren, ergab eine Probe in der Agarplatte 80 Kolonieen, die zweite 150 Kolonieen, während die dritte Probe, die, ebenfalls in Papier eingewickelt, in eine Hosentasche gesteckt war, ziemlich viele Kolonieen ergab.

3. April 1907. Kleiderschrank leer, mit einem wagerechten Zwischenbrett. Rauminhalt 1,5 cbm. Verwendet wurden 300 g Autan und 180 ccm Wasser. Dauer der Desinfektion $6^1/_2$ Stunden.

Erfolg der Desinfektion.

Sämtliche Testobjekte — je 2 Proben sporenhaltige Milzbrandbacillen, Typhusbacillen, Diphtheriebacillen und Staphylokokken — wurden abgetötet.

3. April 1907. Kleiderschrank mit Kleidungsstücken gefüllt. Rauminhalt 1,25 cbm. Verwendet wurden 250 g Autan und 150 ccm Wasser. Dauer der Desinfektion $6^1/_2$ Stunden.

Erfolg der Desinfektion.

Sämtliche Testobjekte, wie im vorletzten Versuche, wurden abgetötet, und zwar auch solche, die zwischen den Kleidern exponiert worden waren.

Nicht abgetötet wurde eine einzige Staphylokokkenprobe, die auf dem oberen Zwischenbrett ausgelegt wurde, das mit dem unteren Teil des Schrankes, wo die Autanentwickelung stattfand, nur durch einen schmalen Spalt kommunizierte.

Die betreffenden Kontrollkulturen zeigten überall üppiges Wachstum; hervorgehoben sei, daß die mit den Eiterfäden geimpften Agarplatten unzählige Kolonieen von Staphylokokken ergaben.

Zusammenfassende Betrachtungen.

Fassen wir zum Schlusse die Resultate unserer Untersuchungen zusammen, so gelangen wir zu folgenden Sätzen:

Die Raumdesinfektion vermittelst Autan bietet gegenüber den bisher üblichen Verfahren der Formalindesinfektion, bei welchen Verdampfungsapparate benutzt werden, eine Reihe wesentlicher Vorteile.

Die Autandesinfektion erfordert keinerlei Apparate und keine komplizierten Maßnahmen, denn eine sorgfältige Abdichtung der Räume ist bei Benutzung des Autanverfahrens unter normalen baulichen Verhält-

nissen nicht notwendig. Ganz ist allerdings die Abdichtung nicht zu vernachlässigen. Alle größeren Lücken und Spalten, Oeffnungen an Ventilationen und Heizungsvorrichtungen sind unter allen Umständen zu verkleben. Wenn sehr große Differenzen zwischen Außen- und Innentemperatur vorhanden sind, so kann aber ausnahmsweise eine peinliche Abdichtung notwendig werden.

Es kann nicht der Zweck der Einführung des Autanverfahrens sein, die Desinfektion den geschulten Desinfektoren zu entziehen. Denn das Autanverfahren ist wie die Formaldehyddesinfektion überhaupt nur ein Teil der allgemeinen Wohnungsdesinfektion. Sie ist eine Oberflächendesinfektion und kann deshalb weder die Anwendung des strömenden Dampfes noch der flüssigen Desinfektionsmittel ersetzen. Die Autandesinfektion soll vielmehr zur Ergänzung der Gesamtdesinfektion den geschulten Desinfektoren, namentlich durch Zeitersparnis, ihre Tätigkeit erleichtern und vereinfachen. Wo Desinfektoren nicht vorhanden sind, können aber auch ausnahmsweise Laien, die über den Zweck des Verfahrens unterrichtet sind, von ihm erfolgreich Gebrauch machen.

Das Autanverfahren ist nicht feuergefährlich und kann deshalb an Orten angewendet werden, wo eine Desinfektion mittels der anderen Verfahren nicht anwendbar ist, so z. B. bei der Desinfektion von kleinen Räumen, wie Droschken, Krankenwagen, Kleiderschränken, Kisten, Koffern, Pelzwerk, Ledersachen u. s. w.

Die Autandesinfektion, bei welcher, je nach Erfordernis, beliebig große Mengen des Desinficiens jederzeit ohne weiteres verwendet werden können, gestattet die Desinfektion auch sehr ausgedehnter Räumlichkeiten, wo sonst eine Desinfektion vermittelst der anderen Verfahren, wegen der Schwierigkeit, die nötige Anzahl Apparate zu beschaffen, undurchführbar wäre. Die Einfachheit und leichte Ausführbarkeit des Autanverfahrens und vor allem die geringe Belästigung der Umgebung durch eindringende Formaldehyddämpfe ist besonders geeignet, die Desinfektion im Allgemeinen zu popularisieren und damit einer sehr wichtigen Maßnahme bei der Verhütung von Infektionskrankheiten weiteste Verbreitung zu verschaffen.

In Bezug auf den Desinfektionswert des Autanverfahrens ist folgendes festzustellen:

Die fast augenblicklich nach Uebergießen des Präparates mit Wasser sich vollziehende Verdampfung des Autans bedingt eine außerordentlich rasche und hohe Konzentration der desinfizierenden Gase und gleichzeitig der zur Erzielung guter Desinfektionswirkung notwendigen Wasserdampfmenge und sichert nach theoretischen Erwägungen von vornherein einen energischen Desinfektionseffekt. Entsprechend dieser Voraussetzung ergeben unsere Versuche, daß das Autanverfahren in seinen desinfektorischen Leistungen den anderen bewährten Formaldehydverfahren keineswegs nachsteht. Bei der Autandesinfektion werden alle vegetativen Formen der Bakterien innerhalb 4—5 und meistens auch die sporenbildenden Arten innerhalb 4—7 Stunden abgetötet.

Die Sättigung der Luft innerhalb der desinfizierten Räume mit Wasserdämpfen ist bei dem Autanverfahren eine fast vollkommene; sie tritt sofort nach Beginn der Desinfektion ein und besteht in vielen Fällen noch nach beendetem Verfahren bis zu einem erheblichen Grade.

Der Erfolg der Autandesinfektion ist in gleicher Weise wie bei den übrigen Verfahren von gewissen atmosphärischen Zuständen abhängig: allzu große Differenzen zwischen Außen- und Innentemperatur können

wegen des starken Gasverlustes, wenn gar keine Abdichtung erfolgte, auf dem Wege der natürlichen Ventilation den Desinfektionseffekt erheblich beeinträchtigen, mitunter sogar aufheben. Bei Räumen, deren Wände sehr ungleich erwärmt sind, kann der Desinfektionserfolg in den einzelnen Abschnitten des Raumes ein sehr ungleicher sein infolge von starken Niederschlägen an den kälteren Wänden.

Bei der Desinfektion von sehr kleinen Räumen empfiehlt es sich, die Menge des verwendeten Autans zu erhöhen, so z. B. für einen Raum von 1 cbm die dreifache Menge und für einen solchen von $2^1/_2$ cbm die zweifache Quantität zu verwenden.

Es kann trotz der außerordentlichen Einfachheit des Autanverfahrens nicht in Frage kommen, daß die anderen wissenschaftlich begründeten und bewährten, mit Apparaten arbeitenden Formaldehydverfahren verdrängt oder daß gar bei der Vollziehung der Desinfektion und der Vornahme der verschiedenen anderweitigen Maßnahmen die Ausführung und Leitung durch gebildete Desinfektoren unter Aufsicht der Behörden und beamteten Aerzte überflüssig gemacht werden.

Die Einfachheit des Autanverfahrens soll im Gegenteil der Ausbreitung der Desinfektionspraxis Vorschub leisten und unter anderem hauptsächlich auch da eintreten, wo eine Desinfektion vermittelst anderer Verfahren aus äußeren Gründen nicht durchführbar ist.

Die in vorstehender Arbeit mitgeteilten Versuche sind von uns auf Veranlassung des Herrn Prof. Kolle unternommen und unter dessen Leitung in den Monaten Oktober 1906 bis April 1907 ausgeführt worden.

Literatur.

Prausnitz, Münch. med. Wochenschr. 1899. No. 1.
Czaplewski, Münch. med. Wochenschr. 1898. No. 41.
Schlossmann (Lingner), Münch. med. Wochenschr. 1898.
Pfuhl, Dtsche militärärztl. Zeitschr. 1899. No. 6.
Flügge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1898.
v. Brunn, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. 1899.
Peerenboom und Rubner, Hyg. Rundschau. 1899.
Hess, O., Formaldehyd als Desinfektionsmittel. [Diss.] Marburg 1898. (Literaturverzeichnis.)
Römer, Zur Frage der Formaldehyddesinfektion. (Beitr. z. exper. Therapie. 1903. Heft 6.)
Werner, Zur Kritik der Formaldehyddesinfektion. (Arch. f. Hyg. Bd. I. 1904.)
Schumburg, Zur Technik der Lüftung bei der Formaldehyddesinfektion. (Dtsche med. Wochenschr. 1898. p. 834.)
Spengler, C., Tuberkelbacillenzüchtung aus Bakteriengemischen und Formaldehyddesinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVII.) — Zur Formaldehydabtötung und Züchtung der Tuberkel- und anderer säurefester Bacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LI.)
Reichenbach, Die Leistungen der Formaldehyddesinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. L.)
Bormans, A., La formaldeide nei servizi di disinfezione. (Riv. d'Ig. e San. Pubbl. 1907.) [Fumigateur.]
Eichengrün, A., Ein neues Formaldehyddesinfektionsverfahren, das Autanverfahren. (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1906. Heft 33.)
—, Das Autanverfahren. Ein neues Formaldehydverfahren. (Sep.-Abdr. aus d. „Umschau". 1906. No. 35.)
Selter, Bakteriologische Untersuchungen über ein neues Desinfektionsverfahren, das Autanverfahren. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 50 u. Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1906. No. 24.)
Wesenberg, Die Formaldehyddesinfektion mit Autan. (Hyg. Rundschau. 1906. No. 22.)
Nieter, A., Ueber die Formaldehyddesinfektion mit Autan. (Hyg. Rundschau. 1907. No. 3.
Kirstein, Ueber ein neues Formaldehydpräparat „Autan" zur Raumdesinfektion. (Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1907. No. 2.)

Carbonel y Soles, Autan; Desinfektion durch Formaldehyd. (Archivos de Ginecopatia, Obstetricia y Pediatria. 1906. No. 22.)
Lemaire, Un nouveau procédé de désinfection par le formaldehyde. (Gaz. méd. belge. 1907. No. 18. — Mouvement hygiénique. 1907. No. 12.)
Kolle, Ueber Wohnungsdesinfektion, im besonderen neuere Formaldehyd- sowie das Autanverfahren. Vortrag, gehalten im Medizinisch-pharmazeutischen Bezirksverein 5. Febr. 1907. 8°. Bern (C. Francke) 1907.
Tomarkin und Heller, Ueber die Formaldehyddesinfektion mit Autan. (Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 6.)
Havemann, Vortrag im Mecklenb. Medizinalbeamtenverein. 1907. No. 2.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XLIII enthaltenen Arbeiten.

II. Namen- und Sachverzeichnis.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3148



